

553,695

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2005年9月1日 (01.09.2005)

PCT

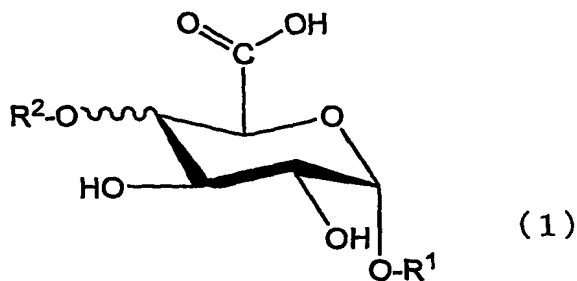
(10) 国際公開番号
WO 2005/079813 A1

- (51) 国際特許分類: A61K 31/7012, A61P 35/00, 43/00
(21) 国際出願番号: PCT/JP2005/003234
(22) 国際出願日: 2005年2月21日 (21.02.2005)
(25) 国際出願の言語: 日本語
(26) 国際公開の言語: 日本語
(30) 優先権データ:
特願2004-043481 2004年2月19日 (19.02.2004) JP
(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社紀文フードケミファ (KIBUN FOOD CHEMIFA CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1048553 東京都中央区入船2丁目1番1号 Tokyo (JP).
(72) 発明者: 熊沢 義雄 (KUMAZAWA, Yoshio) [JP/JP]; 〒2110035 神奈川県川崎市中原区井田2-25-4 Kanagawa (JP).
(73) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 村田 克巳 (MURATA, Katsumi) [JP/JP]; 〒1048553 東京都中央区入船2-1-1 株式会社紀文フードケミファ内 Tokyo (JP). 川原 一芳 (KAWAHARA, Kazuyoshi) [JP/JP]; 〒1140013 東京都北区東田端二丁目8番15号 マンションニュー田端312 Tokyo (JP). 滝本 博明 (TAKIMOTO, Hiroaki) [JP/JP]; 〒1940013 東京都町田市原町田4-9-8-1602 Tokyo (JP).
(74) 代理人: 特許業務法人特許事務所サイクス (SIKS & CO.); 〒1040031 東京都中央区京橋一丁目8番7号 京橋日殖ビル8階 Tokyo (JP).
(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT,

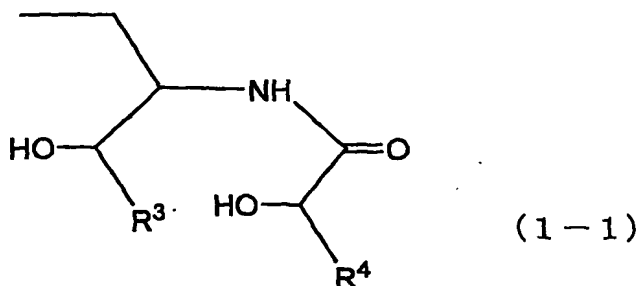
[続葉有]

(54) Title: COMPOSITION FOR NKT CELL ACTIVATION

(54) 発明の名称: NKT細胞活性化用組成物



(57) Abstract: A composition which is more effective in the activation of NKT cells. The composition for NKT cell activation is characterized by containing a sphingolipid having a structure represented by the following formula (1). [In the formula (1), R¹ represents the following formula (1-1): (wherein R³ represents alkyl or alkenyl and R⁴ represents alkyl) and R² represents hydrogen or a group comprising a combination of groups selected among α-galactose, α-glucose, and α-mannose groups, etc.]



[続葉有]

WO 2005/079813 A1



LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI,
NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG,
SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,
VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),
OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

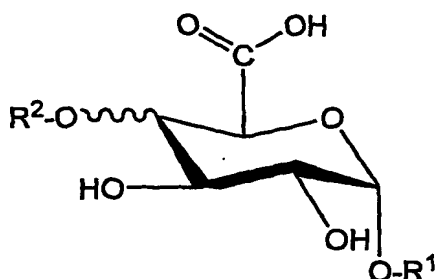
(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU,

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(57) 要約:

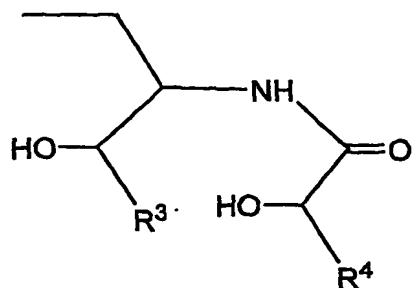
より効果的なNK T細胞活性化用組成物等を提供する。下記式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とするNK T細胞活性化用組成物。

式(1)



(式(1)中、 R^1 は、下記式(1-1)

式(1-1)



(式(1-1)中、 R^3 は、アルキル基またはアルケニル基であり、 R^4 は、アルキル基である。)を表し、

R^2 は、水素原子または、 α -ガラクトース基、 α -グルコース基、 α -マンノースらの組み合わせからなる基である。

明 細 書

NK T細胞活性化用組成物

NK T細胞活性化用組成物、IL-4産生促進用組成物、IFN- γ 産生促進用組成物、樹状細胞活性化用組成物、IL-12産生促進用組成物、IL-10産生促進用組成物、NK細胞活性化用組成物、抗腫瘍作用組成物、抗アレルギー作用組成物、感染抵抗性増強用組成物、抗ウイルス作用組成物、IL-6産生促進用組成物、NO産出促進用組成物

背景技術

本願発明は、特定の構造からなるスフィンゴ糖脂質を含むNK T細胞活性化用組成物、IL-4産生促進用組成物、IFN- γ 産生促進用組成物、樹状細胞活性化用組成物、IL-12産生促進用組成物、IL-10産生促進用組成物、NK細胞活性化用組成物、抗腫瘍作用組成物、抗アレルギー作用組成物、感染抵抗性増強用組成物、抗ウイルス作用組成物、IL-6産生促進用組成物、NO産出促進用組成物に関する。

従来から、スフィンゴ糖脂質は動物細胞等の表層に存在している物質であり、認識機構に関与するものと考えられている。一方、グラム陰性細菌はその細胞表層に、リポ多糖、蛋白質及びリン酸よりなる外膜を持っており、これを介して外界とのやりとりを行っている。従って、外膜の主要成分であるリポ多糖は全てのグラム陰性菌に共通に存在し、必須なものであると考えられてきた。ところが、近年になって、好気性グラム陰性菌であって、以前シュードモナス パウシモビリス (*Pseudomonas paucimobilis*) と呼ばれていたスフィンゴモナス パウシモビリス (*Sphingomonas paucimobilis*) は、リポ多糖を全く保有しないこと及びこの菌は菌体脂質としてスフィンゴ糖脂質を含有していることが知られてきた。

そこで、本願出願人は、上記スフィンゴモナス パウシモビリスの菌体から糖脂質

を単離し、さらに、その化学構造を解析し、同定することに成功している（国際公開WO 92/12986号公報）。そして、本願出願人は、上記スフィンゴ糖脂質が優れた保湿効果と肌荒れ防止効果を有しているため化粧品として広く採用しうることを開示している（特開平11-43437号公報）。加えて、本願出願人は、上記スフィンゴ糖脂質が優れた乳化作用を有することも明らかにしている（特開2000-51676号公報）。

加えて、本願出願人は、他のスフィンゴモナス科の菌株から得られたスフィンゴ糖脂質についても化粧組成物及び医薬組成物として優れていることを開示している（特開2002-010797号公報）。

一方、T細胞レセプター（TCR）を発現するNKT細胞は、Large Granular Lymphocyte (LGL)様の形態を示すこと、IL-2R β 鎖を常時表出すること、パーフォリンを有する点などでは、NK細胞と類縁の細胞であるが、TCRを有するという点でNK細胞とは決定的に異なる細胞群であることが報告されている（J. Immunol., 155, 2972 (1995)）。

かかる状況のもと、J. Immunol., 154, 4333(1995)、J. Immunol., 88, 82(1996)には、マウスではIL-12により活性化されたT細胞の中でもNK1.1を発現しているNKT細胞が、腫瘍の肝臓や肺への血行性転移抑制の重要なエフェクター細胞であることが報告されている。

以上のように、このNKT細胞は、近年、新しい細胞群として非常に注目を集めている細胞群である。

さらに国際公開WO 98/44928号公報は、特定の構造を有する α -グリコシルセラミドがNKT細胞活性化剤として有効であると述べている。しかしながら、より効果的なNKT細胞活性化剤が求められている。

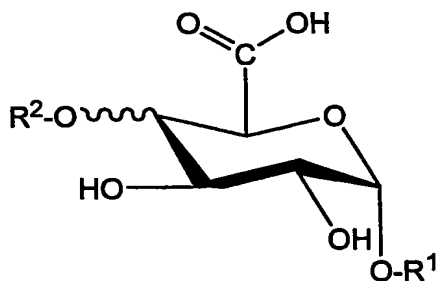
発明の開示

本願発明の目的は、上記課題を解決することであって、より効果的なNK T細胞活性化用組成物を提供することを目的とする。さらに、スフィンゴ糖脂質を含むIL-4産生促進用組成物、IFN- γ 産生促進用組成物、樹状細胞活性化用組成物、IL-12産生促進用組成物、IL-10産生促進用組成物、NK細胞活性化用組成物、抗腫瘍作用組成物、抗アレルギー作用組成物、感染抵抗性増強用組成物、抗ウイルス作用組成物、IL-6産生促進用組成物、NO産出促進用組成物を提供することを目的とする。

上記課題のもと、本願発明者は下記手段により上記課題を解決しうることを見出した。

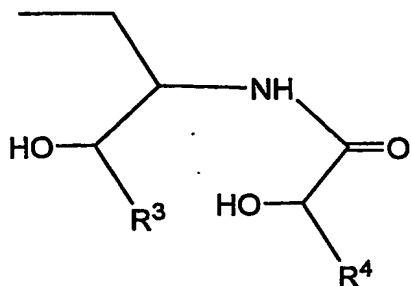
(1) 下記式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とするNK T細胞活性化用組成物。

式(1)



(式(1)中、 R^1 は、下記式(1-1))

式(1-1)



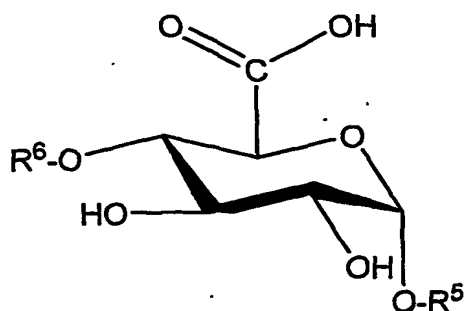
(式(1-1)中、 R^3 は、アルキル基またはアルケニル基であり、 R^4 は、アル

キル基である。)を表し、

R^2 は、水素原子または、 α -ガラクトース基、 α -グルコース基、 α -マンノース基、 α -グルコサミン基若しくは β -グルコサミン基またはこれらの組み合わせからなる基である。)

(2) 前記式(1)は、下記式(3)で表される、(1)に記載のNKT細胞活性化用組成物。

式(3)

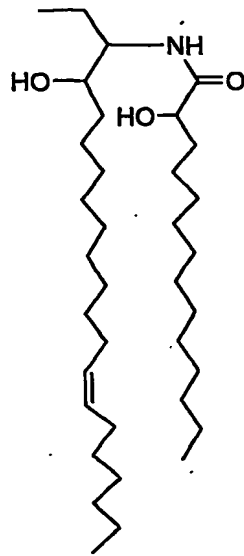
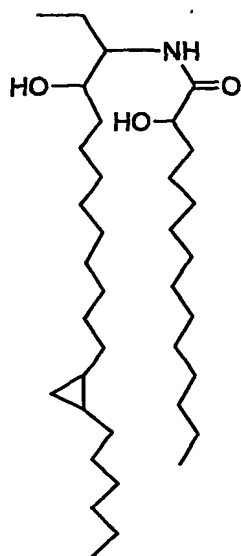
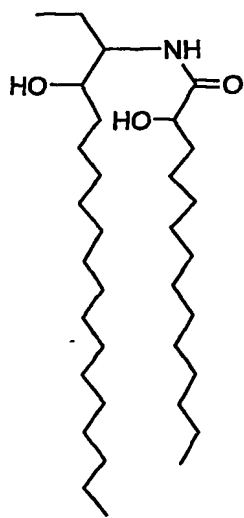


(式(3)中、 R^5 は、下記 R^{51} 、 R^{52} 、 R^{53} 、 R^{54} 、 R^{55} 、 R^{56} 、 R^{57} 、 R^{58} 、 R^{59} 、 R^{70} 、 R^{71} 、 R^{72} 、 R^{73} 、 R^{74} 、 R^{75} 、 R^{76} 、 R^{77} 又は R^{78} を表し、 R^6 は、水素原子、 R^{62} 、 R^{63} 、 R^{64} 又は R^{65} を表す。)

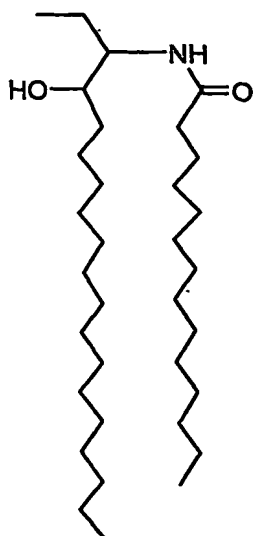
R^{51} :

R^{52} :

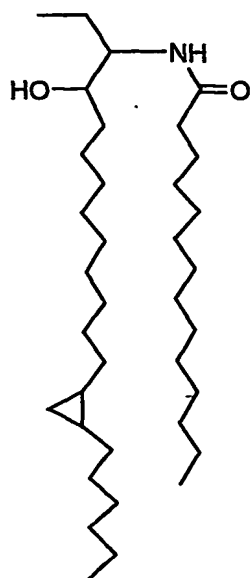
R^{53} :



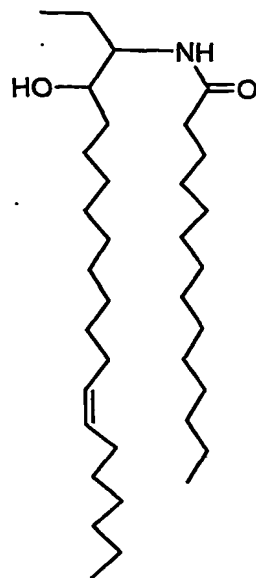
R⁵⁴ :



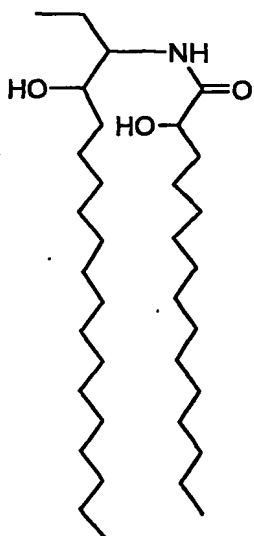
R⁵⁵ :



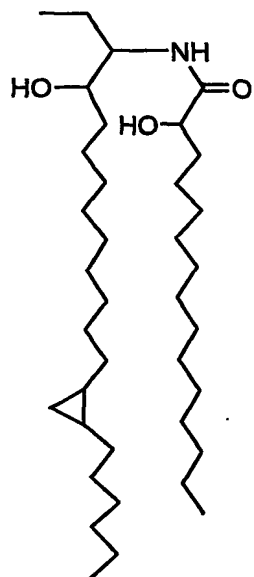
R⁵⁶ :



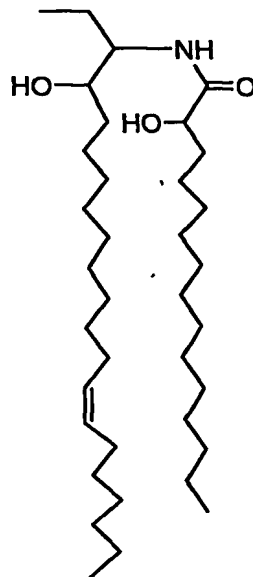
R⁵⁷ :

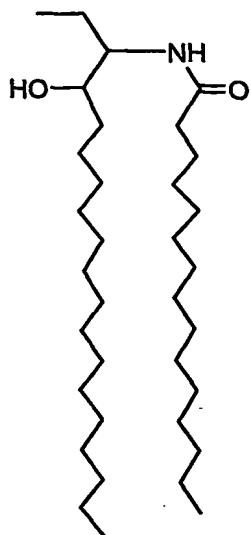
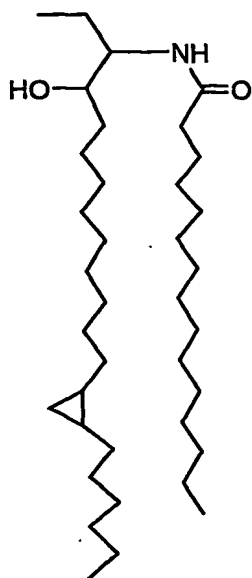
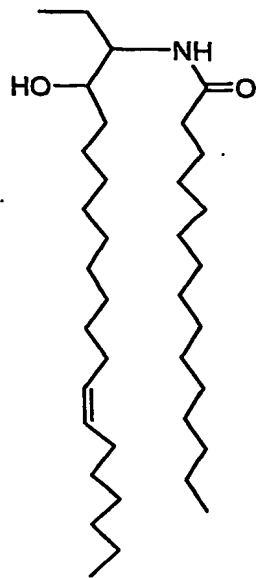
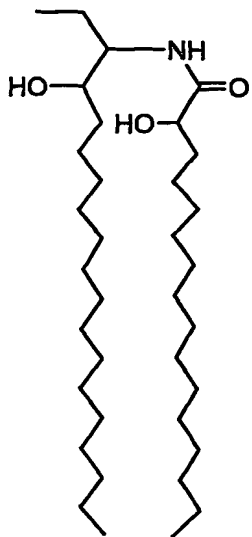
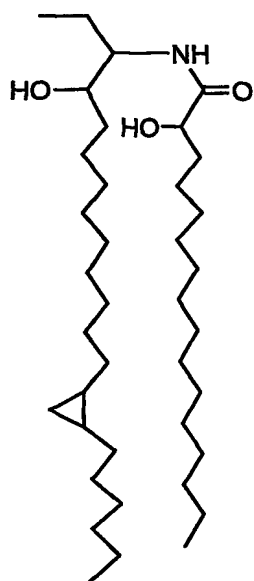
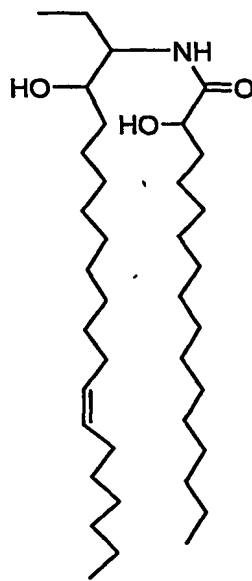


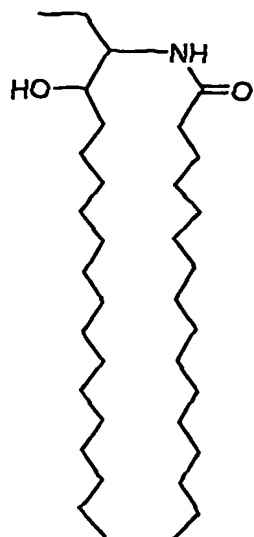
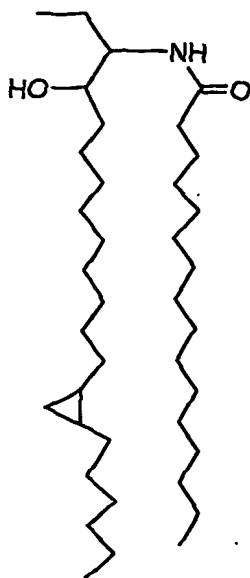
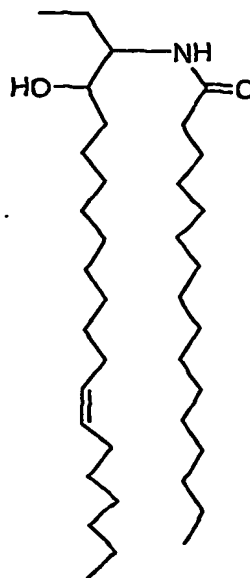
R⁵⁸ :

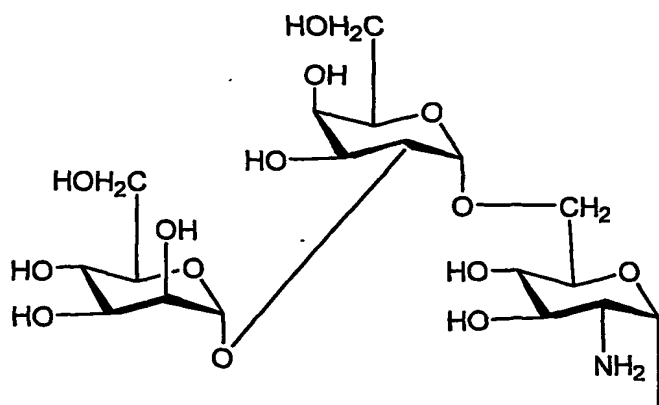
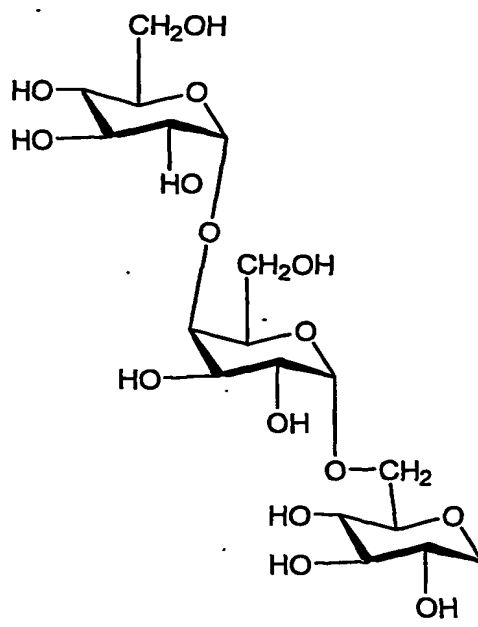
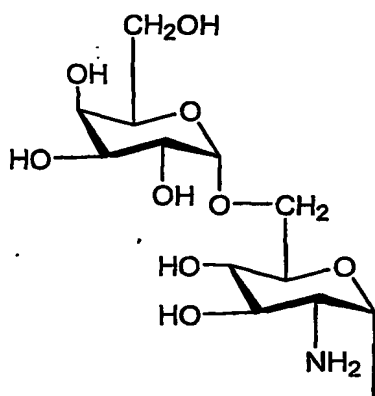
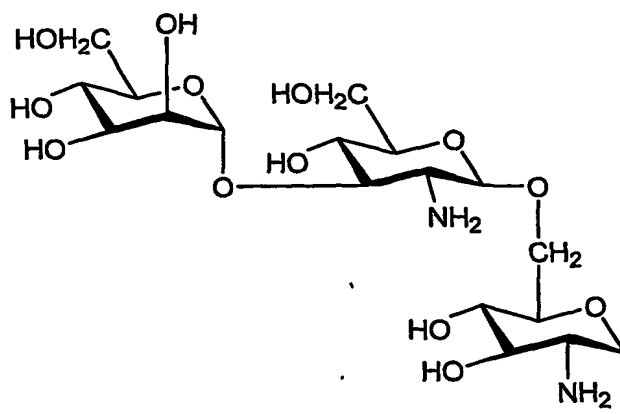


R⁵⁹ :



R⁷⁰ :R⁷¹ :R⁷² :R⁷³ :R⁷⁴ :R⁷⁵ :

R⁷⁶:R⁷⁷:R⁷⁸:

R⁶² :R⁶⁴ :R⁶³ :R⁶⁵ :

(3) 式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とするIL-4産生促進用組成物。

(4) 前記式(1)は、式(3)で表される、(3)に記載のIL-4産生促進用組成物。

(5) 式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とするIFN- γ 産生促進用組成物。

(6) 前記式(1)は、式(3)で表される、(5)に記載のIFN- γ 産生促進

用組成物。

(7) 式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とする樹状細胞活性化用組成物。

(8) 式(1)は、式(3)で表される、(7)に記載の樹状細胞活性化用組成物。

(9) 式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とするIL-12産生促進用組成物。

(10) 式(1)は、式(3)で表される、(9)に記載のIL-12産生促進用組成物。

(11) 式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とするIL-10産生促進用組成物。

(12) 式(1)は、式(3)で表される、(11)に記載のIL-10産生促進用組成物。

(13) 式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とするNK細胞活性化用組成物。

(14) 式(1)は、式(3)で表される、(13)に記載のNK細胞活性化用組成物。

(15) 式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とする抗腫瘍作用組成物。

(16) 式(1)は、式(3)で表される、(15)に記載の抗腫瘍作用組成物。

(17) 式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とする抗アレルギー作用組成物。

(18) 式(1)は、式(3)で表される、(17)に記載の抗アレルギー作用組成物。

(19) 式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とする感染抵抗性増強用組成物。

(20) 式(1)は、式(3)で表される、(19)に記載の感染抵抗性増強用組成物。

(21) 式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とする抗ウイルス作用組成物。

(22) 式(1)は、式(3)で表される、(21)に記載の抗ウイルス作用組成物。

(23) 式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とするIL-6産生促進用組成物。

(24) 式(1)は、式(3)で表される、(23)に記載のIL-6産生促進用組成物。

(25) 式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とするNO産出促進用組成物。

(26) 式(1)は、式(3)で表される、(25)に記載のNO産出促進用組成物。

図面の簡単な説明

第1図は、正常マウスにGSL-1を投与した場合のフローサイトメトリーによる解析結果を示す。第2図は、正常マウスにGSL-2を投与した場合のフローサイトメトリーによる解析結果を示す。第3図は、正常マウスにGSL-6を投与した場合のフローサイトメトリーによる解析結果を示す。第4図は、正常マウスにGSL-7を投与した場合のフローサイトメトリーによる解析結果を示す。第5図は、TLR4欠損マウスにGSL-1を投与した場合のフローサイトメトリーによる解析結果を示す。第6図は、TLR4欠損マウスにGSL-2を投与した場合のフローサイトメトリーによる解析結果を示す。第7図は、正常マウスに各種GSL-1、2、6、7を投与した場合のNTK細胞の変化を示す。第8図は、正常マウス

におけるGSL-1又はGSL-2投与後のIFN- γ の濃度を示す。第9図は、正常マウスにおけるGSL-1又はGSL-2を投与した場合のIFN- γ 産生NTK細胞の変化を示す。第10図は、TLR4欠損マウスにおけるGSL-1又はGSL-2投与後のIL-4の濃度を示す。

発明の詳細な説明

以下において、本願発明の内容について詳細に説明する。尚、本願明細書において「～」とはその前後に記載される数値を下限値及び上限値として含む意味で使用する。また、本願明細書において、上記式(3)中、 R^{51} 、 R^{52} 、 R^{53} 、 R^{54} 、 R^{55} 、 R^{56} 、 R^{57} 、 R^{58} 、 R^{59} 、 R^{70} 、 R^{71} 、 R^{72} 、 R^{73} 、 R^{74} 、 R^{75} 、 R^{76} 、 R^{77} 、 R^{78} を、「 $R^{51} \sim R^{78}$ 」と示すことがある。

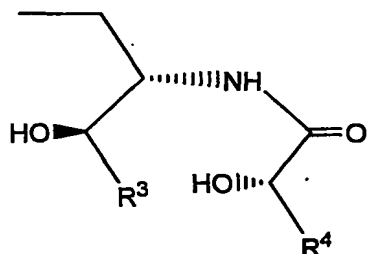
本願発明で採用するスフィンゴ糖脂質(以下、「GSL」と呼ぶことがある)は、上記式(1)で表される構造を有するものである。ここで、式(1)の R^1 に含まれる R^3 のアルキル基は、シクロアルキル基を有していてもよく、該シクロアルキル基は、 R^3 のアルキル末端でもよいし、鎖の中に含まれていてもよい。好ましいシクロアルキル基としては、シクロプロパン基があげられる。 R^3 のアルキル基の炭素数としては、好ましくは13～23、より好ましくは15、16、17、18、19、20又は21である。また、 R^3 のアルキル基及びアルケニル基は、好ましくは置換または無置換の直鎖のものである。また、アルケニル基に含まれる2重結合は、いずれの位置にあってもよい。

一方、 R^4 のアルキル基の炭素数は好ましくは10～20、より好ましくは10、11、12、13、14、15又は16であり、さらに好ましくは、10、11、12、13、14または15である。さらに、 R^4 のアルキル基は、置換または無置換の直鎖アルキル基であることが好ましい。

さらに好ましくは、 R^1 が上記 $R^{51} \sim R^{78}$ のいずれかである。

また、式(1)の R^1 は、下記式(1-2)の立体構造をとるものが好ましい。

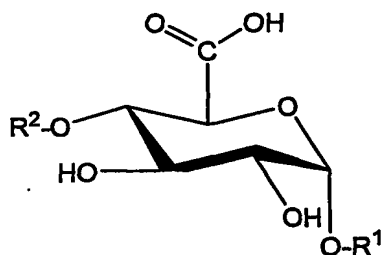
式(1-2)



ここで、上記式(1-2)中の R^3 および R^4 は、上記式(1-1)の R^3 および R^4 と同義である。従って、上記 $R^{51} \sim R^{78}$ も上記立体構造をとるものがより好ましい。

また、上記式(1)は、好ましくは、式(2)、式(3)、式(4)又は式(5)で表されるものである。ここで、式(2)は、

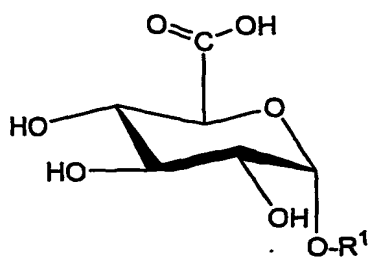
式(2)



式(2)中、 R^1 は及び R^2 は式(1)と同義であり、好ましい範囲も同義である。

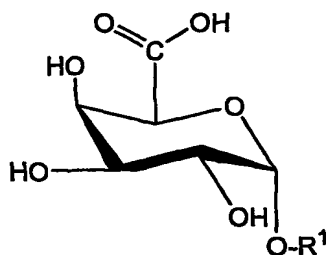
また、式(3)において、好ましくは、 R^5 が、 $R^{51} \sim R^{78}$ のいずれかであって、 R^6 が水素原子の場合(以下、構造Aということがある)、 R^5 が、 $R^{51} \sim R^{78}$ のいずれかであって、 R^6 が R^{62} の場合(以下、構造Bということがある)、 R^5 が、 $R^{51} \sim R^{78}$ のいずれかであって、 R^6 が R^{63} の場合(以下、構造Cということがある)、 R^5 が、 $R^{51} \sim R^{78}$ のいずれかであって、 R^6 が R^{64} の場合(以下、構造Dということがある)、 R^5 が、 $R^{51} \sim R^{78}$ のいずれかであって、 R^6 が R^{65} の場合(以下、構造Eということがある)である。さらにまた、構造Aの中でも、 R^5 が、 R^{51} 、 R^{52} 又は R^{53} のものをより好ましく採用できる。

式(4)



式(4)中、 R^1 は、上記式(1)の R^1 と同義である。また、 R^1 の好ましい範囲も上記と R^1 と同義である(式(4)で表される化合物の少なくとも一種を含むものを以下、構造AAと呼ぶことがある)。

式(5)

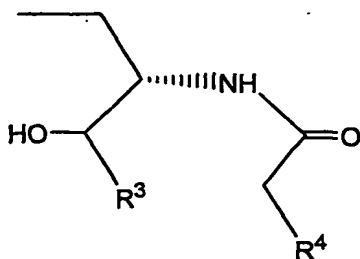


式(5)中、 R^1 は、上記式(1)の R^1 と同義である(以下、構造Fということがある)。また、 R^1 の好ましい範囲も上記 R^1 と同義である。

さらに、本願発明のスフィンゴ糖脂質は1種類のみを採用しても良いし、2種類以上を採用しても良い。2種以上を組み合わせる場合の各成分の比率は特に制限されない。例えば、上記構造Aに該当する3種類の化合物のうち1種類以上を含むもの、上記構造Bに該当する3種類の化合物のうち1種類以上を含むもの、上記構造Fに該当する化合物を少なくとも1種以上含むもの等を挙げることができる。この中でも好ましくは、 R^1 が、 R^{51} 、 R^{52} 又は R^{53} のいずれかの場合である(以下、構造FAと呼ぶことがある)。

本願発明で開示する組成物には、上記に加えて、上記式(1)において、式(1)中の式(1-1)が式(1-1-1)の立体構造で表されるものも含まれていてもよい。

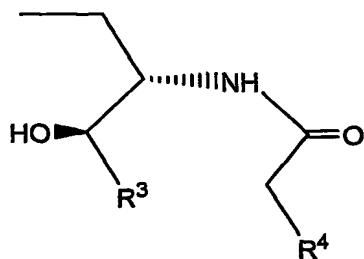
式 (1-1-1)



式 (1-1-1) 中、 R^3 及び R^4 は、それぞれ、上記式 (1-1) と同義であり、好ましい範囲も同義である。

式 (1-1-1) は、さらに好ましくは、下記式 (1-1-2) で表される立体構造のものである。

式 (1-1-2)



式 (1-1-2) 中、 R^3 及び R^4 は、それぞれ、上記式 (1-1) と同義であり、好ましい範囲も同義である。

式 (1) で表されるスフィンゴ糖脂質は、スフィンゴ糖脂質を有する菌体から抽出することによって得ることができる。例えば、国際公開 WO 92/12986 号パンフレットや特開 2002-10797 号公報に記載の方法を採用することができる。スフィンゴ糖脂質は、スフィンゴモナス科に属する菌体中に含まれていることから、スフィンゴモナス科に属する菌のいずれかを用いて抽出すれば式 (1) で表されるスフィンゴ糖脂質を得ることができる。ここで、スフィンゴモナス科に属する菌とは、従来から一般的に「スフィンゴモナス属」(Sphingomonas) に属する菌と言われているものの他、該菌と実質的に同じ科に属するものとして分類され

る菌を含む趣旨である。本願発明で採用できる菌株としては、例えば、Microbiol. Immunol., 2000, 44, 563-575 に示されるいずれの菌株も採用することができる。

式(1)で表されるスフィンゴ糖脂質は、アセトンに対して不溶性であることから、抽出操作を行なう前に菌体をアセトンで洗浄しておくのが好ましい。式(1)のスフィンゴ糖脂質の抽出に用いる溶媒は、メタノールなどのアルコール系溶媒またはアルコール系溶媒とクロロホルムなどの極性溶媒の混合溶媒にするのが収率の点で好ましい。ただし、スフィンゴ糖脂質溶解性の溶媒であれば、これらの以外の溶媒を用いても構わない。

スフィンゴ糖脂質の混合物が得られた場合は、本技術分野で周知の方法にしたがって各成分を分離することができる。たとえば、クロマトグラフィー法によって、スフィンゴ糖脂質は完全に分離することができる。溶出液としてクロロホルム/メタノール混合溶液を用いた場合は、構造A、構造F、構造C、構造Bあるいは構造Dあるいは構造Eの順に各スフィンゴ糖脂質が溶出し、構造B、D、Eは、一般的に異なる菌株が産生するため、極めて簡便に分離することができる。充填剤、溶出液、溶出速度、圧力、温度などのクロマトグラフィーの分離条件については、適宜調節することができる。また、スフィンゴ糖脂質の混合物に含まれる特定の物質のみに選択的に反応する試薬を作用させて該物質の誘導体を調製し、その誘導体の化学的性質または物理的性質を利用して分離を行なうこともできる。菌として、スフィンゴモナスパウシモビリス (*Sphingomonas paucimobilis*) を用いた場合には、一般に構造Aのスフィンゴ糖脂質と構造Bのスフィンゴ糖脂質が得られる。また、スフィンゴモナスカプスラータ (*Sphingomonas capsulata*) (新名: *Novosphingobium capsulatum*) を用いた場合には、一般に構造Aのスフィンゴ糖脂質と構造Cのスフィンゴ糖脂質が得られる。さらに、スフィンゴモナスアドハエシバ (*Sphingomonas adhaesiva*) を用いた場合には、一般に構造Aのスフィンゴ糖脂質と構造Dのスフィンゴ糖脂質が得られる。加えて、スフィンゴモナススピーシーズMK 3 4 6

(*Sphingomonas* sp. MK346)を用いた場合には、一般に構造Aのスフィンゴ糖脂質と構造Eのスフィンゴ糖脂質が得られる。また、スフィンゴモナスウィッティチアイ (*Sphingomonas wittichii*)、スフィンゴモナスマクロゴルタビダス (*Sphingomonas macrogoltabidus*) (新名: *Sphingopyxis macrogoltabida*)、スフィンゴモナステラエ (*Sphingomonas terrae*) 又はスフィンゴモナスヤノイクヤエ (*Sphingomonas yanoikuyae*) (新名: *Sphingobium yanoikuyae*)を用いた場合には、一般に構造A A (例えば、構造A)のスフィンゴ糖脂質と構造F (例えば、構造F A)のスフィンゴ糖脂質が得られる。したがって、これらの情報に基づいて菌を選択すれば、目的とするスフィンゴ糖脂質を効率よく得ることができる。

式(1)で表されるスフィンゴ糖脂質は、周知の合成法を組み合わせることによって合成することもできる。たとえば、糖とスフィンゴシン部分をあらかじめ合成するか、菌体から抽出しておき、アミド結合を形成することによって式(1)で表される各スフィンゴ糖脂質を調製することができる。

本願発明のNK T細胞とは、例えば、ヒトV α 24⁺NK T細胞及びマウスV α 14⁺NK T細胞を含む趣旨である。また、NK T細胞活性化とは細胞傷害活性の増強、サイトカイン産生増強及びNK T細胞の増殖促進を含む意図である。さらに、本願発明のNK T細胞活性化用組成物は、結果として、IL-4の産生及びIFN- γ の産生を促進する。従って、IL-4又はIFN- γ によって促進される各種機能の促進用組成物としても使用することができる。NK T細胞活性化用組成物としては、本願発明で採用するGSLのうち、ガラクトツロン酸型のスフィンゴ糖脂質な構造を有するものが特に好ましい。

IL-4によって促進されるものの例としては、Th2の誘導、抗体のクラススイッチの誘導が挙げられ、IFN- γ によって促進されるものの例としては、IFN- γ によって促進されるTh1の誘導、マクロファージ活性化作用が挙げられる。

ここで、サイトカインの増強として、上記のほか、各種IL、IFN- α 、IF

N- β 、腫瘍壊死因子 (TNF)、リンホトキシン、造血因子のコロニー刺激因子 (CSF)、エリスロポエチン、造血因子の上皮増殖因子 (EGF)、繊維芽細胞増殖因子 (FGF) 産生又は活性化促進作用組成物としても利用することができる。さらに、本願発明で開示した上記スフィンゴ糖脂質は、上記以外の免疫活性化組成物や、がん細胞のアポトーシス誘導化組成物、NF- κ B 活性化促進、IKK 複合体の分解、p38 のリン酸化、Akt のリン酸化等を目的とした、産生又は活性化促進用組成物としても利用できる。

本願発明でいう、樹状細胞活性化とは、例えば、抗原提示能亢進を含む意図である。

本願発明の GSL は IL-12 の産生及び IL-10 の産生を促進する。従って、IL-12 の産生及び IL-10 の産生によって促進される各種機能の促進用組成物としても使用することができる。特に、本願発明の IL-12 の産生及び／または

IL-10 の産生組成物としては、グルクロン酸型のスフィンゴ糖脂質を用いることが好ましい。

本願発明でいう、NK細胞活性化とは、例えば、感染細胞傷害を含む意図である。NK細胞活性化用組成物としては、本願発明で採用する GSL のうち、単糖型のスフィンゴ糖脂質であるものが特に好ましい。

本願発明でいう、抗腫瘍作用とは、例えば、ヘルパーT細胞およびキラーT細胞活性化を含む意図である。抗腫瘍作用組成物としては、本願発明で採用する GSL のうち、四糖型のスフィンゴ糖脂質であるものが特に好ましい。

本願発明でいう、抗アレルギー作用とは、例えば、好酸球浸潤抑制、肥満細胞抑制作用、IgE産生抑制、化学伝達物質放出抑制を含む意図である。

さらに、本願発明の抗アレルギー作用組成物は、副作用が弱い傾向にあり、花粉症、気管支喘息、アトピー性皮膚炎等への利用に特に有用である。

本願発明でいう、感染抵抗性増強作用とは、例えば、ヘルパーT細胞およびキラーT細胞活性化を含む意図である。本願発明の感染抵抗性増強作用組成物は、サルモネラ感染症、結核への利用に特に有用である。感染抵抗性増強作用組成物としては、本願発明で採用するGSLのうち、四糖型のスフィンゴ糖脂質であるものが特に好ましい。

本願発明でいう、抗ウイルス作用とは、例えば、I型インターフェロン産生増強、ヘルパーT細胞およびキラーT細胞活性化を含む意図である。本願発明の抗ウイルス作用組成物は、サイトメガロウイルス感染症、ヘルペスウイルス感染症などヘルペスウイルス科感染症への利用に特に有用である。

また、本願発明の組成物を医薬品若しくは医薬部外品やその有効成分として利用する場合、好ましくは、当業者に周知の方法によって製造可能な医薬組成物として投与することができる。医薬用組成物としては、例えば、錠剤、カプセル剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、液剤、及びシロップ剤等をあげることができる。上記の医薬組成物は、薬理的、製剤学的に許容し得る添加物を加えて製造することができる。薬理的、製剤学的に許容し得る添加物の例としては、例えば、賦形剤、崩壊剤ないし崩壊補助剤、結合剤、滑沢剤、コーティング剤、色素、希釈剤、基剤、溶解剤ないし崩壊補助剤、等張化剤、pH調節剤、安定化剤、噴射剤、及び粘着剤等をあげることができる。上記の医薬組成物には、本願発明の趣旨を逸脱しない範囲内で、他の効能を有する成分を1種又は2種以上配合してもよい。本願発明の医薬の投与量は特に限定されず、有効成分の種類などに応じて適宜選択することができ、さらに患者の体重や年齢、疾患の種類や症状、投与経路など通常考慮すべき種々の要因に応じて、適宜増減することができる。一般的には、成人一日あたり、0.001～100mg好ましくは0.01～10mgの範囲で用いることができる。また、投与方法も特に限定されず、注射剤、輸液剤等として、静脈注射により投与してもよいし、経口的に投与してもよい。

実施例

以下に実施例を挙げて本願発明をさらに具体的に説明する。以下の実施例に示す材料、使用量、割合、処理内容、処理手順等は、本願発明の趣旨を逸脱しない限り、適宜、変更することができる。従って、本願発明の範囲は以下に示す具体例に限定されるものではない。

本実施例においては、GSLとして、スフィンゴモナスパウシモビリスから產生された構造Aのもの（GSL-1）、スフィンゴモナスパウシモビリスから產生された構造Bのもの（GSL-2）、スフィンゴモナスカプスラータから產生された構造Cのもの（GSL-3）、スフィンゴモナスアドハエシバから產生された構造Dのもの（GSL-4）、スフィンゴモナススピーシーズMK346から產生された構造Eのもの（GSL-5）、スフィンゴモナスヤノイクヤエから產生された構造AAのもの（GSL-6）、スフィンゴモナスヤノイクヤエから產生された構造Fのもの（GSL-7）、スフィンゴモナスウィッティチアイから產生された構造AAのもの（GSL-8）、スフィンゴモナスウィッティチアイから產生された構造Fのもの（GSL-9）、スフィンゴモナスマクロゴルタビダスから產生された構造AAのもの（GSL-10）、スフィンゴモナスマクロゴルタビダスから產生された構造Fのもの（GSL-11）、スフィンゴモナステラエから產生された構造AAのもの（GSL-12）、スフィンゴモナステラエから產生された構造Fのもの（GSL-13）を採用した。これらは、国際公開WO92/12986号公報、特開2002-010797号公報に記載の方法に従って分離した。

実施例1 NK T細胞活性化作用の測定

動物：

試験用マウスとして、C57BL/10ScSnマウス（以下、正常マウスとい

う。)及びC57BL/10ScCrマウス(TLR4欠損IL-12R β 2鎖変異マウス)(以下、TLR4欠損マウスという。)(マックスプランク免疫生物学研究所、ドイツ、フライブルグ市)(7週齢、雌)を使用した。GSL-1およびGSL-2はTLR4を介して正常マウスのマクロファージを活性化し、IL-12産生を誘導する。TLR4欠損マウスは、IL-12受容体の β 鎖に変異があり、IL-12が作用しないものである。IL-12は免疫系を強力に活性化する物質であるが、本実施例のTLR4欠損マウスを用いると本願発明で採用するスフィンゴ糖脂質のNK T細胞に対する活性化促進をIL-12の作用を受けない状態で、より明確にすることができる。

サンプルの作成:

各GSLのいずれか10 μ gを、正常マウス及びTLR4欠損マウスに投与した。投与は、尾静脈内投与により行った。そして、対照として生理食塩水を投与したもの(コントロール)、投与後1日経過時(1日目)及び2日経過時(2日目)の血清及び肝臓を採取した。

肝臓内白血球の分離:

採取した肝臓を2枚のスライドガラスを用いてつぶした。細胞浮遊液を500rpm、1分間遠心した。得られた上清を1200rpm(300g)、5分間遠心した。その沈渣を30%のパーコール(ファルマシア社製)に懸濁し、さらに、これを、67.5%パーコールの上に重層して、20℃、2000rpm(800g)、30分間遠心し、30%と67.5%パーコールの境界に白血球を集積させ回収した。得られた細胞をハンクス液で3回洗浄して肝臓内白血球を得た。

フローサイトメトリー:

FcRを介した蛍光標識抗体の非特異的結合を防ぐため、抗Fc γ R(2.4G2)を用いた。抗体は、PE標識抗NK1.1抗体(日本ベクトン・ディッキソン(株)製、PK136)及びビオチン標識抗TCR $\alpha\beta$ 抗体(日本ベクトン・ディ

ツキソン (株) 製、H 5 7 - 5 9 7) を用いた。細胞に各抗体を添加した後、4℃、暗所で30分反応させた。尚、ビオチン標識抗体を用いた細胞は、C y - c h r o m e 結合ストレプトアビジン (日本ベクトン・ディッキソン株式会社製、5 5 4 0 6 2) を4℃、暗所で30分反応させた。上記抗体、C y - c h r o m e 結合ストレプトアビジンの染色及び細胞の洗浄には0.1% N a N ₃ 含有1%血清アルブミンを用いた。細胞は染色後、1%パラホルムアルデヒド含有P B S (-) で固定した。測定は自動細胞解析分離装置 (ベックマンコールター (株)、COULTER EPICS ELITE ESP) で行った。また、P E 標識抗NK 1. 1 抗体を、F I T C 標識抗C D 1 1 a 抗体 (日本ベクトン・ディッキソン株式会社製、M 1 7 / 4) に代えて同様に行った。

上記P E 標識抗NK 1. 1 抗体 (又はC D 1 1 a) を用いた方法によって得られたフローサイトメトリーの結果を第1図～第6図に示した。ここで、第1図～第4図は、それぞれ、正常マウスを用いた場合で、順に、G S L - 1、2、6、7を投与した場合を、第5図及び第6図は、それぞれ、T L R 4 欠損マウスを用いた場合で、順に、G S L - 1、2を投与した場合を示した。

ここで、図中に示した数字は、NK 1. 1 (又はC D 1 1 a) とT C R $\alpha \beta$ の両方を発現した細胞の割合 (%) を示している。尚、NK 1. 1 (又はC D 1 1 a) とT C R $\alpha \beta$ の両方を発現したものは、N K T 細胞である。

また、日を変えて、上記と同様に、P E 標識抗NK 1. 1 抗体を用いた方法によって得られた正常マウスのフローサイトメトリーの結果 (N K T 細胞の割合) を第7図に示す。ここで、図中に示した数字は両方を発現した細胞の割合 (%) を示し、図中の米印は、t 検定により統計的にコントロールと有意な差が認められたものである。

I F N - γ の存在の確認:

G S L - 1 又はG S L - 2 を添加した場合の血中のI F N - γ 量について検討した。正常マウス及びT L R 4 欠損マウスに、G S L - 1 又はG S L - 2 を上記と

同様の方法により投与し、血清中に含まれる I F N- γ を解析した。

I F N- γ は、捕捉抗体として精製抗 I F N- γ 抗体 (R 4-6 A 2) (日本ベクトン・ディッキソン株式会社製) と、検出抗体としてビオチン結合抗 I F N- γ 抗体 (A N-1 8) (日本ベクトン・ディッキソン株式会社製) を用いたサンドイッチ E L I S A 法で行った。ビオチン結合抗体に続く反応でアルカリ性フォスファターゼ標識ストレプトアビジン (Z Y M E D 製、4 3-4 8 2 2) を結合させ、パラニトロフェニルリン酸塩 (S I G M A 製、N-4 6 4 5) を基質として発色させた。マイクロプレートリーダー (日本パイオラドラボラトリーズ株式会社、M o d e l 5 5 0) で 4 0 5 n m と対照として 5 4 0 n m の波長の吸光度を観察した。この結果、正常マウスにおいて、第 8 図に示すように、I F N- γ の産生が促進されていることが認められた。尚、T L R 4 欠損マウスの場合、I L-1 2 に反応しないため、G S L-1 又は G S L-2 を投与しても I F N- γ は検出されなかった。

I F N- γ 産生 N K T 細胞のフローサイトメトリー:

G S L-1 又は G S L-2 を投与した場合の正常マウスについて、上記と同様の方法でフローサイトメトリーを行い、P E 標識抗 N K 1. 1 抗体、ビオチン標識抗 T C R $\alpha \beta$ 抗体、F I T C 標識抗 I F N- γ 抗体 (日本ベクトンディッキンソン株式会社製、5 5 4 4 1 0) にて染色して、I F N- γ 産生 N K T 細胞の割合を測定した。その結果を第 9 図に示す。ここで、図中の数字は、N K 1. 1 と T C R $\alpha \beta$ の両方を発現した、I F N- γ 産生 N K T 細胞の割合に相当する。

I L-4 の量の測定:

G S L-1 又は G S L-2 を添加した場合の血中の I L-4 の量が増加するかについて検討した。上記正常マウス及び T L R 4 欠損マウスに、G S L-1 又は G S L-2 を上記と同様の方法により投与し、血清中に含まれる I L-4 を解析した。

I L-4 の測定は、マウス I L-4 B D O p t i E I A E L I S A S e t (日本ベクトン・ディッキソン株式会社製、5 5 5 2 3 2) を用いて該マニユ

アルに従って測定した。結果、いずれのマウスについても、IL-4の増加が認められた。特に、第10図に示すとおり、TLR4欠損マウスにおいて、IL-4の顕著な産生促進が認められた。

GSL-1又はGSL-2を添加した場合、上記フローサイトメトリーにおいて、NK1.1とTCR $\alpha\beta$ の両方に発現したものの割合の増加が認められたこと、及び、これらの増加が大きいものについては、IFN- γ とIL-4の両方が産生されていることが確認できたことから、GSL-1又はGSL-2がNKT細胞の活性化に有効であることが認められた。

実施例2 IFN- γ 産生促進作用

試験用マウスとして、C57BL/6マウスを用いた。各GSLは、各GSLは、20%ペンタジオールで最終濃度が10 mg/mlとなるように溶解した後、生理食塩水で希釈した溶液（以下、「P」と示すことがある。）、または、0.5%ペントジオール、0.5%N-ラウロイルサルコシン、9.8%ショ糖溶液で最終濃度が5 mg/mlとなるように溶解した後、生理食塩水で希釈した溶液（以下、「P+S」と示すことがある。）を用いた。各GSLは、マウス尾静脈から投与した（投与量は100 μ g）。対照として溶媒のみを投与した（コントロール）。投与16時間後に摘出した肝臓から細胞浮遊液を調製し、45%パーコールと67.5%パーコールを用いた比重遠心法により肝臓内白血球を得た。白血球は、抗Fc γ R抗体（2.4G2）で処理した後、FITC標識抗IFN- γ 抗体、PE標識抗NK1.1抗体、ビオチン標識抗TCR $\alpha\beta$ 抗体を用いて処理した。白血球に抗体を添加した後、4℃、暗所で30分間反応させた。ビオチン標識抗体を用いた白血球は、Cy-chrome結合ストレプトアビジンを4℃、暗所で30分反応させた。抗体およびCY-chrome結合ストレプトアビジンの染色および細胞の洗浄には、0.1%NaN₃含有1%血清アルブミンを用いた。細胞は染色後、

1%パラホルムアルデヒド含有リン酸緩衝生理食塩（PBS（－））で固定した。測定は、上記に記載のEPICS ELITE ESPで行った。その結果を、表1に示した。ここで、表1は、IFN- γ 産生NKT細胞の割合（%）を示している。なお、本実験は、実験1、2、3の3回に分けて行なった。

表1

	試料	IFN- γ 産生NKT細胞 の割合（%） （平均値±標準偏差）
実験1	コントロール	2.0±0.2
	GSL-1	3.6±0.3
	GSL-2	2.6±0.3
	GSL-6	4.3±1.4
	GSL-7	14.0±1.4
実験2	コントロール	3.7±0.5
	GSL-3	4.6±0.6
	GSL-4	5.2±1.0
	GSL-5	4.2±0.3
実験3	コントロール	2.5±0.5
	GSL-8	4.7±0.8
	GSL-9	5.4±1.2
	GSL-10	3.8±0.4
	GSL-11	5.7±0.5
	GSL-12	3.2±0.2

GSL-13	7.3±3.0
--------	---------

表1から明らかなとおり、IFN- γ 産生促進作用が認められた。特に、GSL-1、2、4、6～11および13についてより効果的であり、GSL-6～9、11、13についてさらに効果的であり、GSL-7について顕著に効果的であった。

実施例3 樹状細胞活性化作用

樹状細胞活性化作用について確認した。マウスは、C57BL/6マウス（7週令、メス）を用いた。各GSLは、上記実施例2と同様の方法で溶解した。各試料は、マウス尾静脈から投与した（投与量は100 μ g）。投与12時間後に摘出した脾臓から細胞浮遊液を調製した。白血球は、抗Fc γ R抗体（2.4G2）で処理した後、PE標識抗CD11c抗体（日本ベクトンディッキンソン株式会社製）、ビオチン標識抗CD40（日本ベクトンディッキンソン株式会社製）、ビオチン標識抗CD80抗体（日本ベクトンディッキンソン株式会社製）、ビオチン標識抗CD86抗体（日本ベクトンディッキンソン株式会社製）を用いた。細胞に抗体を添加した後、4℃、暗所で30分間反応させた。ビオチン標識抗体を用いた細胞は、Cy-chrome結合ストレプトアビジンを4℃、暗所で30分反応させた。抗体またはCy-chrome結合ストレプトアビジンの染色および細胞の洗浄には0.1% NaN₃含有1%血清アルブミンを用いた。細胞は染色後、1%パラホルムアルデヒド含有PBS（-）で固定した。測定はEPICS ELITE ESPで行った。CD11c陽性細胞中のCD40、CD80およびCD86陽性細胞の割合（%）を表2に示した。

表2

試料	CD40 (%) (平均値±標準偏差)	CD80 (%) (平均値±標準偏差)	CD86 (%) (平均値±標準偏差)
コントロール	51.2±0.6	72.8±1.3	26.3±1.8
GSL-1	67.8±1.9	81.9±1.2	45.5±0.9
GSL-2	65.0±9.8	76.2±1.8	31.5±1.7
GSL-3	58.1±2.9	79.9±1.3	35.4±2.7
GSL-4	63.3±0.1	80.6±2.6	35.0±0.2
GSL-5	59.8±0.7	77.4±1.1	42.7±17.7
GSL-6	65.4±2.5	81.0±0.4	28.7±3.0
GSL-7	78.1±3.5	85.4±1.7	61.3±22.5
GSL-8	73.8±4.2	83.9±1.0	56.6±24.6
GSL-9	76.4±1.1	84.9±1.3	48.7±6.1
GSL-10	64.3±4.6	78.9±0.4	55.6±30.4
GSL-11	71.9±2.4	80.9±1.2	55.4±19.8
GSL-12	64.1±2.1	81.3±2.0	34.2±51.2
GSL-13	77.3±0.8	85.2±1.3	46.5±1.7

表2から明らかとなっており、樹状細胞活性化作用が認められた。特に、GSL-1、2、4、6～13についてより効果的であり、GSL-7～9、11、13について顕著に効果的であった。

実施例4 IL-12の誘導およびIL-10の誘導

実施例1で採用した正常マウスの骨髄細胞を、GM-CSFおよびIL-4存在

下で8日間培養し、骨髓由来の樹状細胞を得た。下記表に示した各GSLは、エタノール：ドデカン（98：2）で0.5 mg/mlで溶後し、96穴プレートに20 μ lずつ分注し、溶媒を揮発させ各GSLをプレートに固相化した。対照群としてエタノール：ドデカン（98：2）のみを分注し揮発させた。GSLを固相化したプレートに骨髓由来の樹状細胞を加え、24時間後の培養上清を回収した。培養上清は、ELISA法によりIL-12p70の量およびIL-10の量をBD OptEIA Kitを用いて測定した。IL-12p70の量の測定結果を表3に、IL-10の量の測定結果を表4に示した。

表 3

試料	IL-12p70 (pg/ml)
対照群	検出限界以下
GSL-1	79.3
GSL-2	103.4
GSL-4	231.2
GSL-6	296.6
GSL-8	454.0
GSL-10	547.0
GSL-12	868.6

表 4

試料	IL-10 (pg/ml)
----	------------------

対照群	129.0
GSL-4	147.4
GSL-10	431.1
GSL-12	583.2
GSL-13	155.9

上記表から明らかなとおり、IL-12 p70 の誘導および IL-10 の誘導が認められた。特に、IL-12 p70 の誘導については、GSL-2、4、6、8、10、12 についてさらに効果的であり、GSL-6、8、10、12 について顕著に効果的であった。また、IL-10 の誘導については、GSL-10 および 12 について顕著に効果的であった。

実施例 5 NK細胞活性化作用

マウスは、C57BL/6 マウス（7週令、メス）を用いた。各GSLは上記実施例2と同様の方法で溶解した。各試料は、マウス尾静脈から投与した（投与量は $100 \mu\text{g}$ ）。対照として溶媒のみを投与した（コントロール）投与16時間後に摘出した脾臓から細胞浮遊液を調製した。脾臓細胞と ^{51}Cr 標識 YAC-1 細胞を 50:1 の比率で混合し、4時間培養した。4時間後の培養上清中の ^{51}Cr 量を、 γ カウンター（WALLAC製）を用いて測定した。結果を表5に示す。なお、本実験は、実験1、2、3の3回に分けて行なった。

表 5

試料	NK 活性 (%) (平均値±標準偏差)
----	-------------------------

実験 1	コントロール	26.1±5.1
	GSL-2	34.1±6.2
	GSL-3	33.2±8.2
	GSL-5	35.7±4.8
実験 2	コントロール	17.7±2.0
	GSL-1	30.1±3.8
	GSL-6	27.3±4.5
	GSL-7	33.5±5.1
実験 3	コントロール	8.3±3.6
	GSL-8	22.2±1.7
	GSL-9	14.8±2.1
	GSL-10	12.5±3.0
	GSL-12	11.2±3.4
	GSL-13	14.4±3.1

ここで、表 5 から明らかなとおり、GSL-1、5、6～9 及び 13 についてより効果的であり、GSL-1、7、8 について顕著に効果的であった。

実施例 6 抗腫瘍作用

マウスは、C57BL/6 マウス（7 週令、メス）を用いた。腫瘍細胞 B16-F10（北海道大学遺伝子病制御研究所）（ 2×10^5 個）を尾静脈から移植した。各 GSL は、上記実施例 2 と同様の方法で溶解した。GSL の投与量は、 $100 \mu\text{g}$ とし、腫瘍細胞移植後 1 日、5 日、9 日目に腹腔内投与した。移植 14 日目に解剖し、肺の転移巣数を測定した。結果を表 6 に示す。

表 6

試料 (溶媒)	転移巣数 (平均値±標準偏差)
コントロール	111.2±17.5
GSL-1 (P)	89.5±15.9
GSL-2 (P)	40.0±15.1
GSL-6 (P)	63.2±21.8
GSL-1 (P+S)	69.7±16.9
GSL-2 (P+S)	55.7±19.8
GSL-6 (P+S)	68.7±19.9
GSL-7 (P+S)	67.5±14.7

表 6 から明らかなとおり、上記いずれの G S L においても効果的に肺の転移を抑制した。特に、G S L - 2 はその効果が顕著であった。

実施例 7 抗アレルギー作用

B A L B / c マウスに卵白アルブミン (O V A) 1 0 0 μ g と水酸化アルミニウムゲル 1 . 6 m g を混合した抗原を 0 日および 7 日に皮下接種した。1 4、1 5、1 6 日目に O V A 1 0 μ g を生理食塩水に溶解し、点鼻接種 3 日後 (初回接種から 1 8 日目) に解剖した。各 G S L は、0 . 5 % ペンタンジオール、0 . 5 % N - ラウロイルサルコシン、9 . 8 % ショ糖溶液で最終濃度が 5 m g / m l となるように溶解した後、生理食塩水で希釈した。生理食塩水で希釈した各 G S L 溶液は、1 日、5 日、9 日、1 3 日目に腹腔内投与した。肺胞洗浄液中の全細胞数および好酸球数

を計測した。全細胞数はチュルク液（和光純薬工業製）で、好酸球数はギムザ染色液（メルク株式会社製）で染色し計測した。抗OVA抗体価（I g G、I g G 1、I g G 2 a）はOVAをコーティングした96穴プレートに段階希釈した血清を添加した。検出抗体には、アルカリホスファターゼ標識した抗マウスI g G抗体（ZYMED社製）、抗マウスI g G 1抗体（ICN社製）、抗マウスI g G 2 a抗体（ZYMED社製）を用いた。パラニトロフェニルリン酸塩を基質として発色させ、3 NのNaOHで反応停止後、マイクロプレートリーダーで405 nmの吸光度を測定した。抗OVA I g E抗体価は、抗マウスI g E抗体（日本ベクトンディッキンソン株式会社製）をコーティングした96穴プレートに段階希釈した血清を添加した。次いで、各穴にビオチン標識したOVAを添加後、パーオキシダーゼ標識ストレプトアジピンを用い、SureBlue（フナコシ株式会社製）を基質として発色させた。2 N H_2PO_4 で反応停止後、マイクロプレートリーダーで450 nmの吸光度を測定した。

また、コントロールは、BALB/cマウスに、GSLを投与しないで同時に行ったものである。

白血球数に関する測定結果を表7に示す。好酸球数を表8に示す。

表7

	白血球数 1×10^5 細胞/m l (平均値±標準偏差)
正常マウス	32.7±9.9
コントロール	147.0±50.1
GSL-1	88.5±34.6

表 8

	好酸球数 1×10^6 細胞 / ml (平均値 ± 標準偏差)
正常マウス	0
コントロール	27.7 ± 24.1
GSL-1	4.9 ± 4.2

表 7 および表 8 から明らかなとおり、肺胞洗浄液中の白血球数および好酸球数は顕著に減少した。

実施例 8 感染抵抗性増強作用

マウスは、C57BL/6 マウス (7 週令、メス) を用いた。各 GSL は、実施例 2 の「P」と同様の方法で溶解した。溶解したものを、*Salmonella typhimurium* SL7207aroA 株 (スタンフォード大学医学部、米国) に感染させる 1 時間前に腹腔内投与した。感染 3 日目に解剖し、腹腔内生菌数を測定した。腹腔内生菌数の結果を表 9 に示した。

内生菌数を測定した。腹腔内生菌数の結果を表 9 に示した。

内生菌数の結果を表 9 に示した。

した。

表 9

試料	腹腔内生菌数 $\times 10^6$ cfu
----	-----------------------------

	(平均値±標準偏差)
コントロール	20.9±3.5
GSL-1	12.1±8.2
GSL-2	6.7±3.6

表 9 中、cfu は、コロニー形成単位の略を意味する。表 9 から明らかなとおり、GSL の投与により、感染抵抗性の増強作用が認められた。

実施例 9 抗ウイルス作用

マウスは、C57BL/6 マウス（7 週令、メス）を用いた。各 GSL は、実施例 2 と同様の方法で溶解した。溶解したものを、マウスに静脈投与した。投与 1 時間後に、マウスに、マウスサイトメガロウイルス（Smith 株） 1×10^4 pfu（pfu：プラーク形成単位の略である）を腹腔内接種した。感染 3 日目に解剖し、肝臓および脾臓内ウイルス価を測定した。その結果を、表 10 に示した。また、脾臓の 3 日後の NK 活性および血清中 IFN- γ を測定した。その結果を表 11（NK 活性）および表 12（IFN- γ ）を示す。

表 10

試料	脾臓内ウイルス $\times 10^3$ pfu (平均値±標準偏差)	肝臓内ウイルス $\times 10^3$ pfu (平均値±標準偏差)
コントロール	2.4±0.5	63.0±19.5

GSL-1	0.2 ± 0.1	7.5 ± 4.1
GSL-2	0.2 ± 0.1	3.3 ± 1.9
GSL-6	0.2 ± 0.1	2.7 ± 1.2
GSL-7	0.2 ± 0.1	4.8 ± 1.9

表 1 1

試料	NK活性 (平均値±標準偏差)
コントロール	41.4 ± 10.7
GSL-1	72.5 ± 9.7
GSL-2	54.0 ± 14.0
GSL-6	75.2 ± 4.8
GSL-7	72.5 ± 7.4

表 1 2

試料	血清 IFN- γ (ng/ml) (平均値±標準偏差)
コントロール	2.0 ± 0.5
GSL-1	3.0 ± 0.7
GSL-2	4.5 ± 1.1
GSL-6	2.6 ± 0.7
GSL-7	2.5 ± 0.3

その結果、表 1 0 に示すとおり、G S L を前投与することにより、感染抵抗性の

増強作用が認められた。また、表 1 1 に示すとおり、NK 活性は顕著に増強し、I F N- γ レベルはコントロール群と比較して増強した。特に、G S L-6 についてその効果が顕著であることが認められた。

実施例 1 0 I L-6 産生促進作用および N O 産出促進

実施例 1 で用いた正常マウスに 4 % のチオグルコール酸 3 m l を腹腔内投与し、4 日後に腹腔滲出細胞を採取し実験に用いた。マクロファージ細胞株 R A W 2 6 4 細胞（理化学研究所）も実験に用いた。各 G S L は、エタノール：ドデカン（9 8：2）溶媒で濃度が 0. 5 m g / m l となるように溶後し、9 6 穴プレートに 2 0 μ l ずつ分注し、溶媒を揮発させて G S L をプレートに固相化した。G S L を固相化したプレートにマクロファージを加え、2 4 時間後の培養上清を回収した。この培養上清については、E L I S A 法により I L-6 を、グリース試薬を用いて一酸化窒素（N O）も測定した。I L-6 の測定結果を、表 1 3 に、一酸化窒素の測定結果を、表 1 4 に示した。

表 1 3

試料	IL-6 (pg/ml) (平均値 \pm 標準偏差)
対照群	3491. 0 \pm 492. 1
GSL-1	3921. 7 \pm 665. 1
GSL-4	3453. 0 \pm 252. 5
GSL-5	4742. 0 \pm 525. 2
GSL-6	5389. 7 \pm 1003. 7
GSL-7	6948. 0 \pm 457. 1

GSL-8	6264.0 \pm 1075.0
GSL-9	6711.3 \pm 485.1
GSL-10	7474.0 \pm 920.3
GSL-11	10046.0 \pm 340.0
GSL-12	7303.3 \pm 640.2
GSL-13	7619.3 \pm 774.3

表 1 4

試料	NO (μ M) (平均值 \pm 標準偏差)
対照群	0.7 \pm 0.2
GSL-2	6.8 \pm 0.7
GSL-3	3.5 \pm 0.2
GSL-4	3.8 \pm 0.5
GSL-5	5.2 \pm 0.5
GSL-6	4.4 \pm 0.8
GSL-7	3.9 \pm 0.3
GSL-8	4.2 \pm 1.1
GSL-9	9.0 \pm 0.5
GSL-10	8.4 \pm 0.8
GSL-11	11.3 \pm 1.0
GSL-12	7.7 \pm 0.5
GSL-13	7.1 \pm 0.1

表13から明らかなとおり、IL-6誘導作用が認められた。特に、GSL-5～13についてより効果的であり、GSL-6～13についてさらに効果的であり、GSL-7～13について顕著に効果的であった。

また、表14から明らかなとおり、NO産出促進作用が認められた。特に、GSL-2、5、9～13についてより効果的であり、GSL-11についてさらに効果的であった。

実施例11

本願発明のGSL組成物についての毒性について確認した。マウスは、C57BL/6マウス（7週令、メス）を用いた。20mgのガラクトサミンを腹腔内投与直後に、リポ多糖（以下、「LPS」と示すことがある）（*Salmonella abortus equi* 由来、マックスプランク免疫生物学研究所、ドイツ、フライブルグ市）（溶媒は生理食塩水）、または、下記表15に示したGSL（溶媒は「P+S」）の下記表15に示した量を、マウス尾静脈から投与した。投与24時間後、マウスの生死を観察した。その結果を表15に示した。

表15

LPSまたはGSL	添加量	死亡数／実験数
GSL-1	100 μ g	0／3
GSL-2	100 μ g	0／3
GSL-3	100 μ g	0／3
GSL-4	100 μ g	0／3

GSL-5	100 μ g	0 / 3
GSL-6	100 μ g	0 / 3
GSL-7	100 μ g	0 / 3
GSL-8	100 μ g	0 / 3
GSL-9	100 μ g	0 / 3
GSL-10	100 μ g	0 / 3
GSL-11	100 μ g	0 / 3
GSL-12	100 μ g	0 / 3
GSL-13	100 μ g	0 / 3
LPS	100 ng	3 / 3
LPS	10 ng	3 / 3

LPSを添加した場合、10 ngの添加でもすべてのマウスが死亡した。一方、GSLでは100 μ g添加してもすべてのマウスが生存していた。このように本願発明の組成物はきわめて毒性が低いことが認められた。

実施例10

エンドトキシントレランスが誘導されるか否かについて確認した。マウスは、C57BL/6マウス（7週令、メス）を用いた。LPS（溶媒は生理食塩水）または各GSLの下記表16に示す量をマウス尾静脈から投与した。投与後24時間に、ガラクトサミン（20mg）およびLPS（100 ng、溶媒は生理食塩水）を腹腔内投与し、マウスの生死を観察した。その結果を、表16に示す。

表16

LPSまたはGSL	添加量	死亡数／実験数
GSL-1	100 μ g	3／3
GSL-2	100 μ g	3／3
GSL-6	100 μ g	3／3
GSL-7	100 μ g	3／3
LPS	100 ng	0／3

表16から明らかなとおり、GSL-1、GSL-2、GSL-6およびGSL-7を100 μ g添加してもエンドトキシントレランスは誘導されず、すべてのマウスが死亡した。一方、LPSは100 ngの添加でもエンドトキシントレランスが誘導された。

産業上の利用可能性

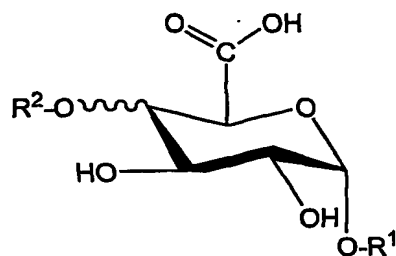
本願発明の組成物を採用することにより、より効果的なNK細胞活性化用組成物が得られた。また、IL-4産生促進用組成物、IFN- γ 産生促進用組成物、樹状細胞活性化用組成物、IL-12産生促進用組成物、IL-10産生促進用組成物、NK細胞活性化用組成物、抗腫瘍作用組成物、抗アレルギー作用組成物、感染抵抗性増強用組成物、抗ウイルス作用組成物、IL-6産生促進用組成物、NO産出促進用組成物が得られた。特に、これらを併せ持つという点でも本願発明の組成物は有意である。

さらに、本願発明の組成物は、毒性が低く、エンドトキシントレランスが誘導されないため、副作用が低いという観点からも有用である。

請 求 の 範 囲

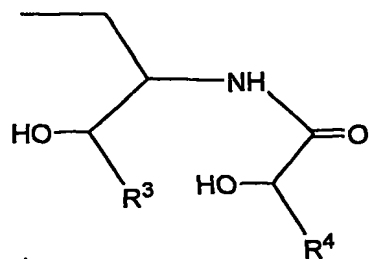
1. 下記式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とするNK T細胞活性化用組成物。

式(1)



(式(1)中、 R^1 は、下記式(1-1)

式(1-1)

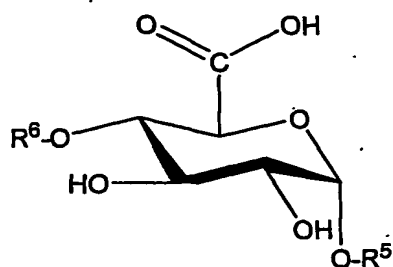


(式(1-1)中、 R^3 は、アルキル基またはアルケニル基であり、 R^4 は、アルキル基である。)を表し、

R^2 は、水素原子または、 α -ガラクトース基、 α -グルコース基、 α -マンノース基、 α -グルコサミン基若しくは β -グルコサミン基またはこれらの組み合わせからなる基である。)

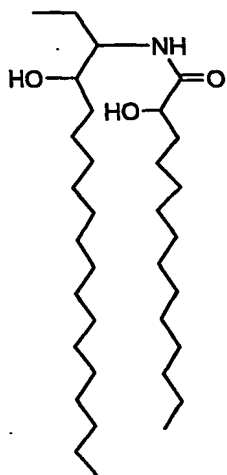
2. 前記式(1)は、下記式(3)で表される、請求項1に記載のNK T細胞活性化用組成物。

式(3)

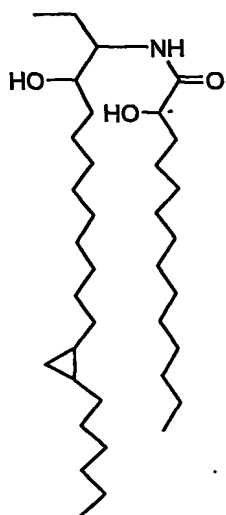


(式(3)中、 R^5 は、下記 R^{51} 、 R^{52} 、 R^{53} 、 R^{54} 、 R^{55} 、 R^{56} 、 R^{57} 、 R^{58} 、 R^{59} 、 R^{70} 、 R^{71} 、 R^{72} 、 R^{73} 、 R^{74} 、 R^{75} 、 R^{76} 、 R^{77} 又は R^{78} を表し、 R^6 は、水素原子、 R^{62} 、 R^{63} 、 R^{64} 又は R^{65} を表す。)

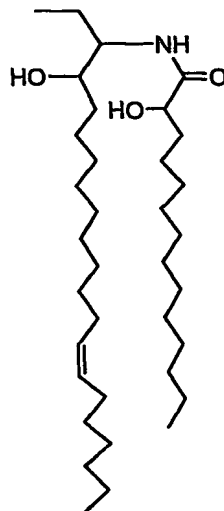
R^{51} :

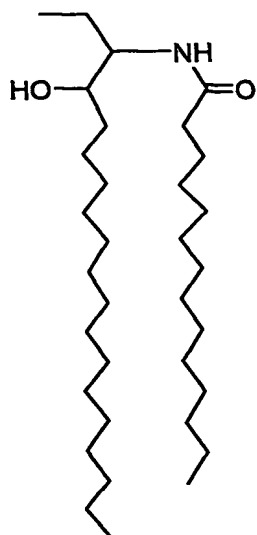
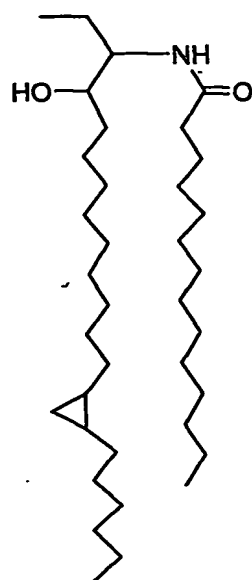
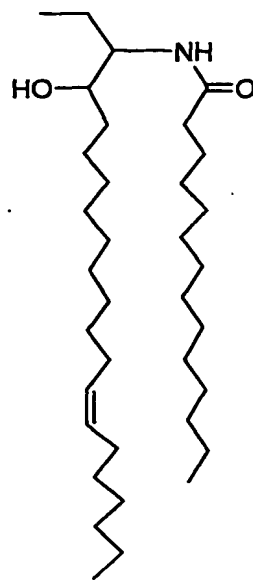
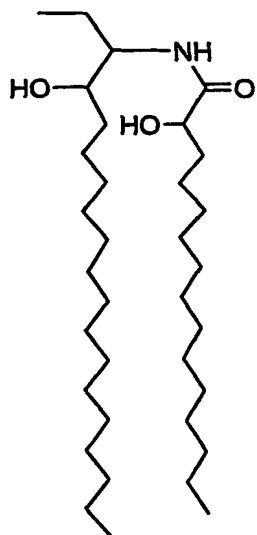
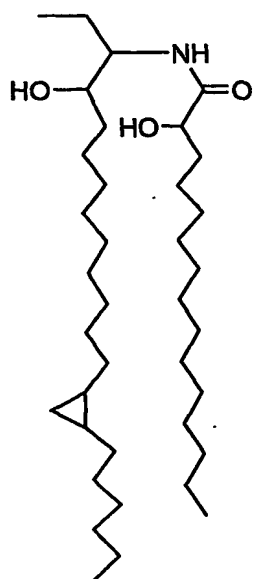
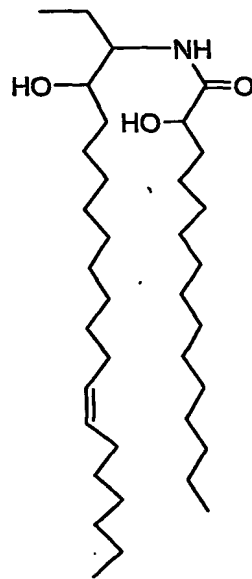


R^{52} :

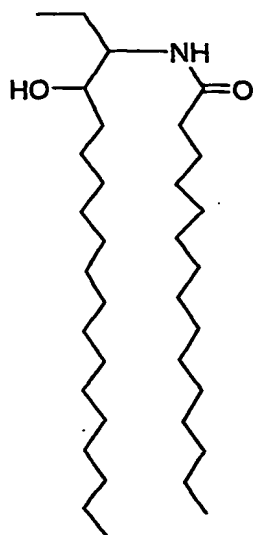


R^{53} :

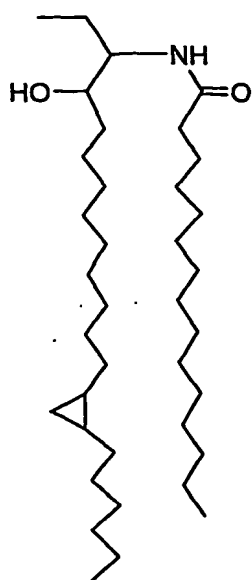


R⁵⁴ :R⁵⁵ :R⁵⁶ :R⁵⁷ :R⁵⁸ :R⁵⁹ :

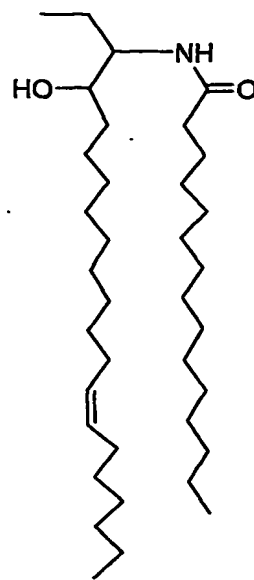
R⁷⁰ :



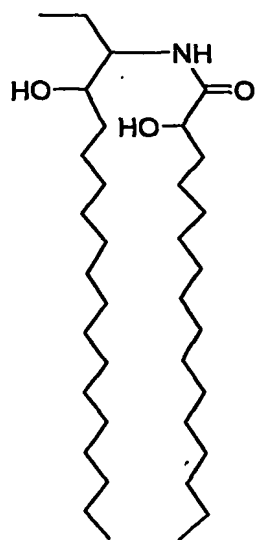
R⁷¹ :



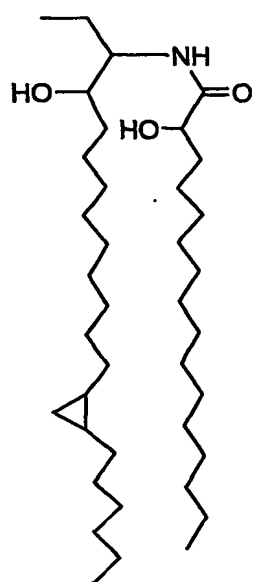
R⁷² :



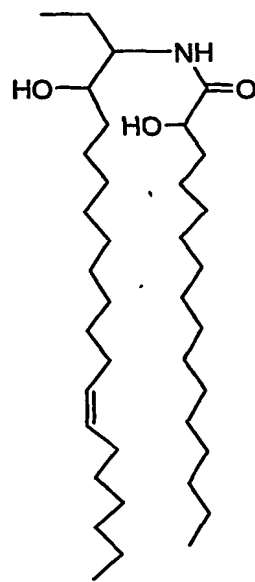
R⁷³ :

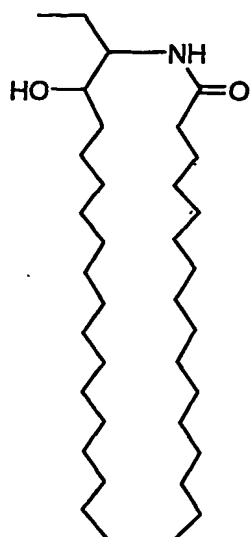
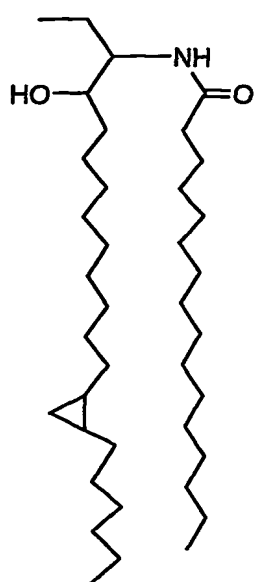
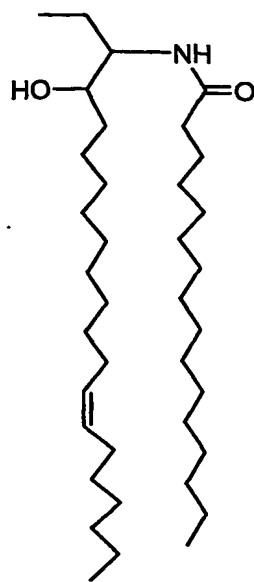


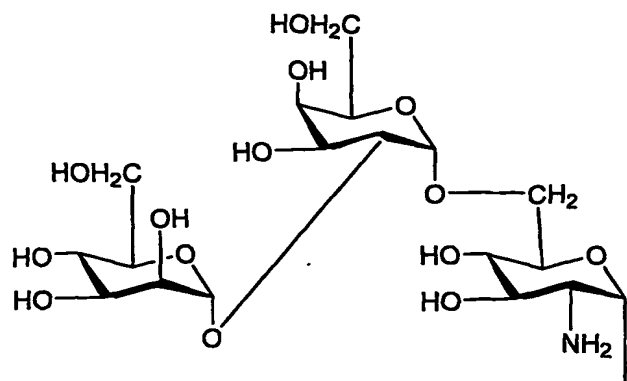
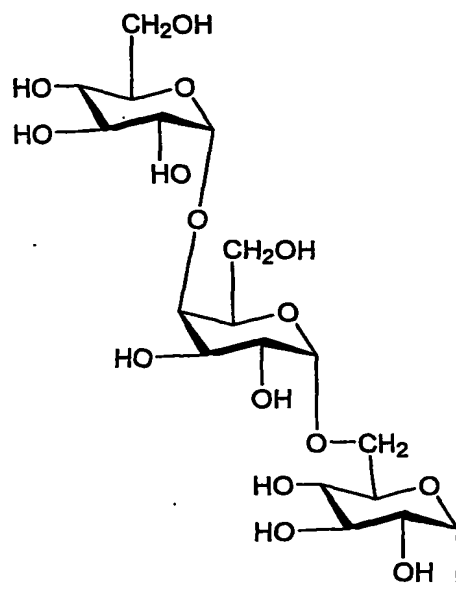
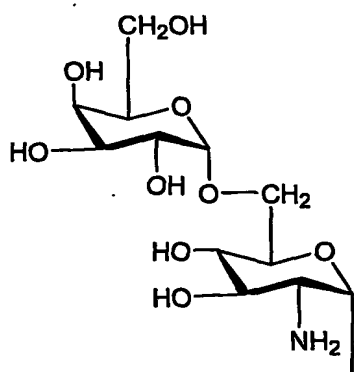
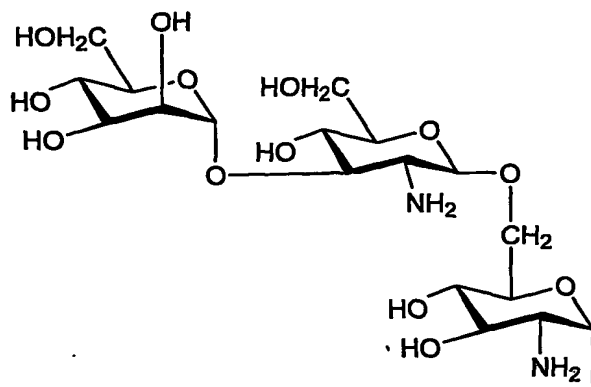
R⁷⁴ :



R⁷⁵ :

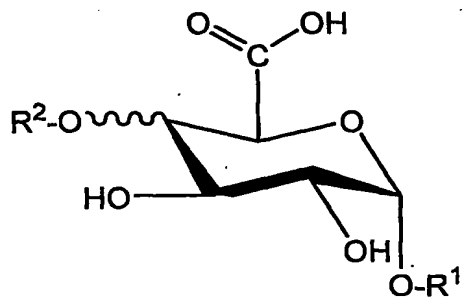


R⁷⁶:R⁷⁷:R⁷⁸:

R⁶² :R⁶⁴ :R⁶³ :R⁶⁵ :

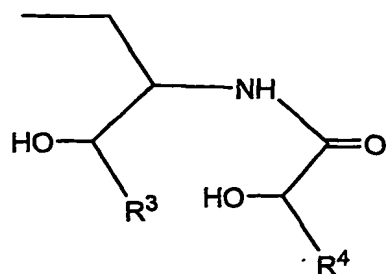
3. 下記式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とするIL-4産生促進用組成物。

式(1)



(式(1)中、R¹は、下記式(1-1)

式 (1-1)

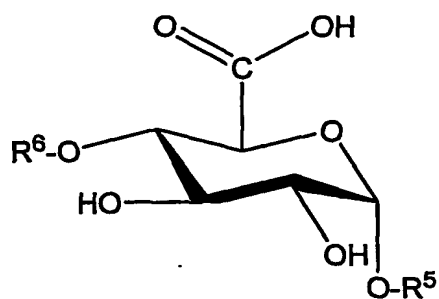


(式 (1-1) 中、 R^3 は、アルキル基またはアルケニル基であり、 R^4 は、アルキル基である。)を表し、

R^2 は、水素原子または、 α -ガラクトース基、 α -グルコース基、 α -マンノース基、 α -グルコサミン基若しくは β -グルコサミン基またはこれらの組み合わせからなる基である。)

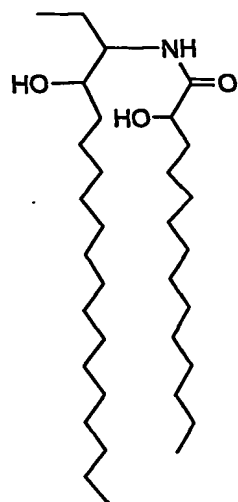
4. 前記式 (1) は、下記式 (3) で表される、請求項 3 に記載の IL-4 産生促進用組成物。

式 (3)

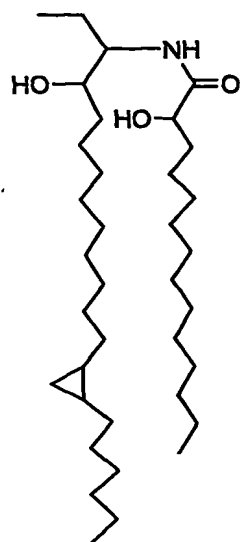


(式 (3) 中、 R^5 は、下記 R^{51} 、 R^{52} 、 R^{53} 、 R^{54} 、 R^{55} 、 R^{56} 、 R^{57} 、 R^{58} 、 R^{59} 、 R^{70} 、 R^{71} 、 R^{72} 、 R^{73} 、 R^{74} 、 R^{75} 、 R^{76} 、 R^{77} 又は R^{78} を表し、 R^6 は、水素原子、 R^{62} 、 R^{63} 、 R^{64} 又は R^{65} を表す。)

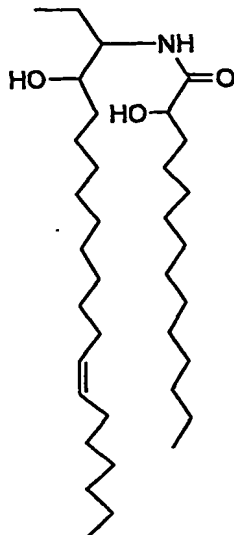
R⁵¹ :

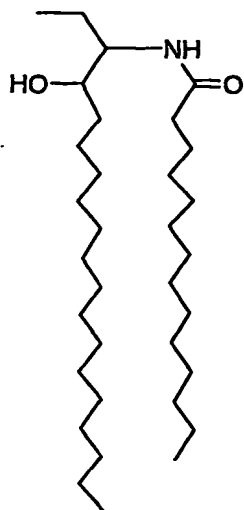
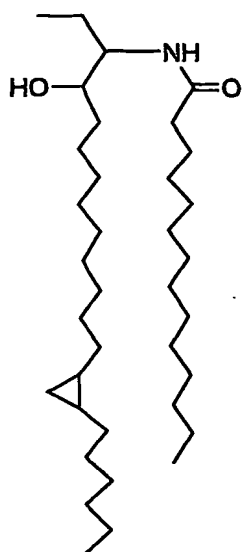
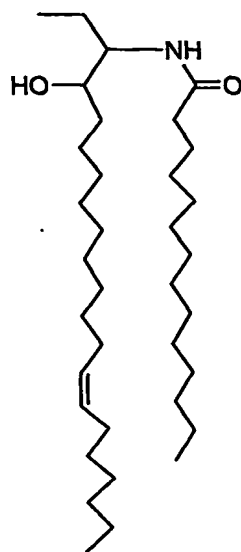
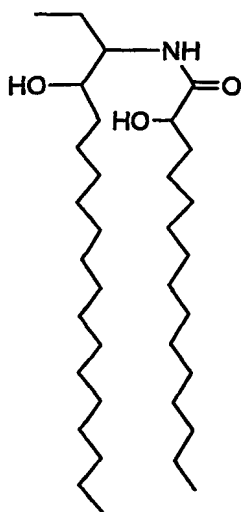
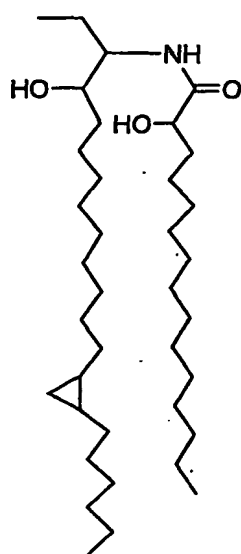
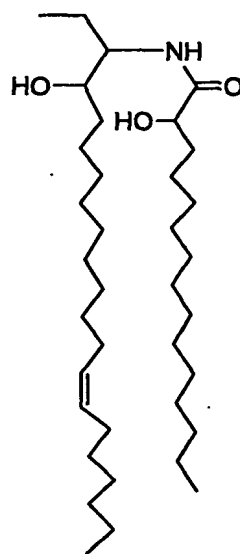


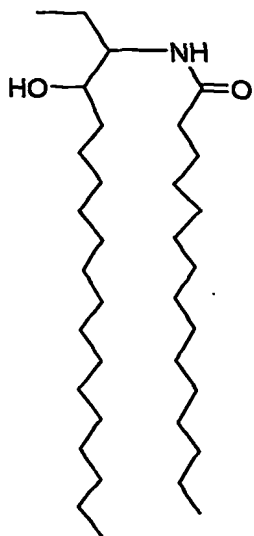
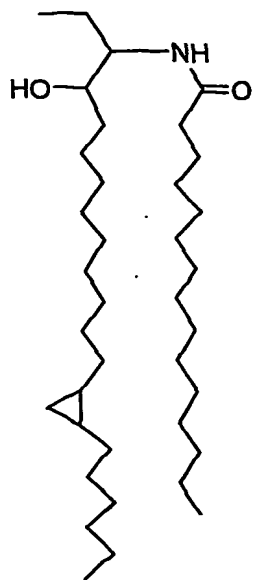
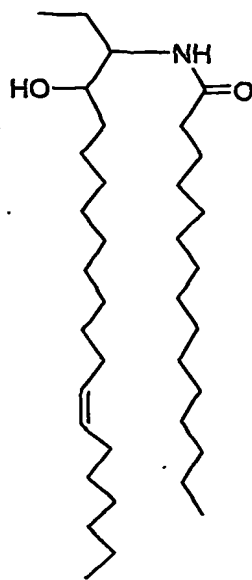
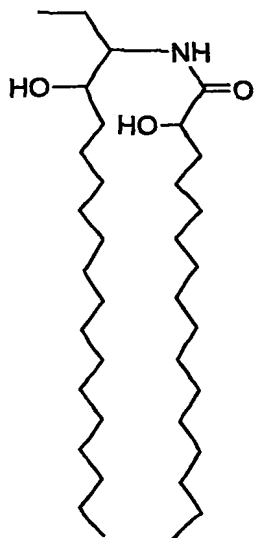
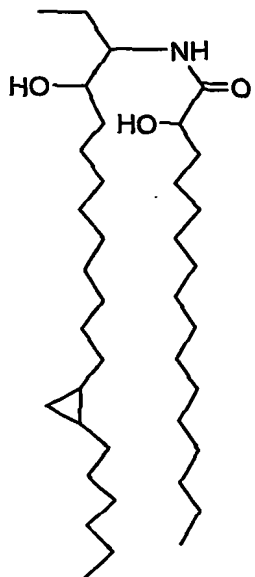
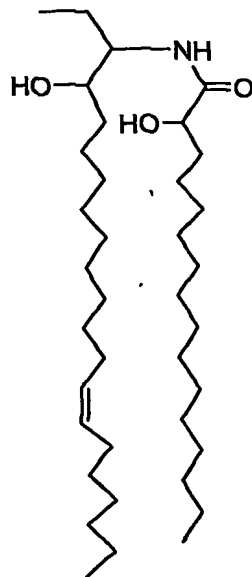
R⁵² :



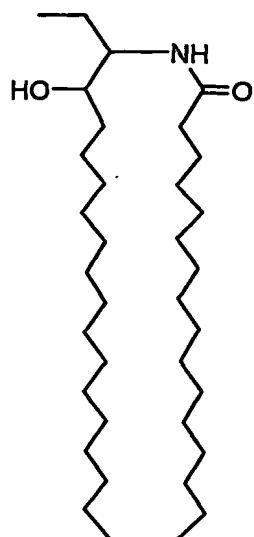
R⁵³ :



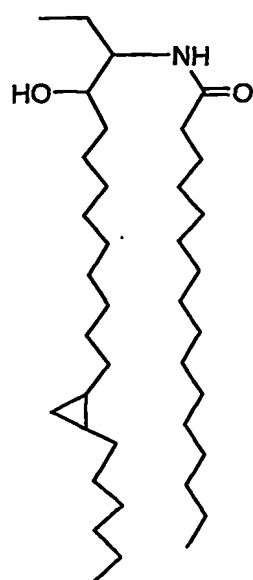
R⁵⁴ :R⁵⁵ :R⁵⁶ :R⁵⁷ :R⁵⁸ :R⁵⁹ :

R^{70} : R^{71} : R^{72} : R^{73} : R^{74} : R^{75} :

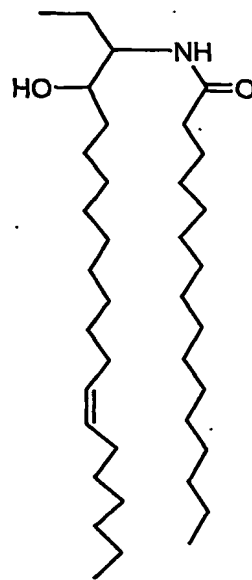
R⁷⁶:



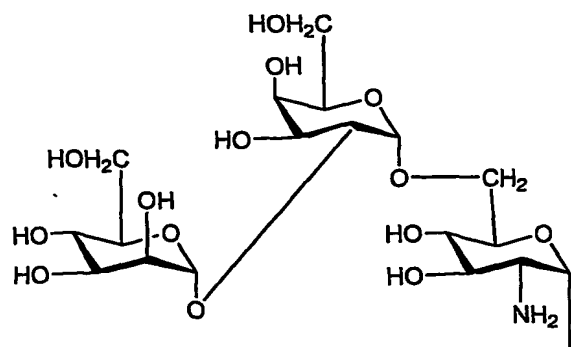
R⁷⁷:



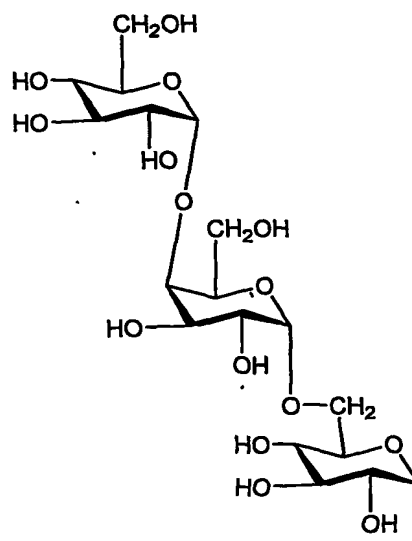
R⁷⁸:



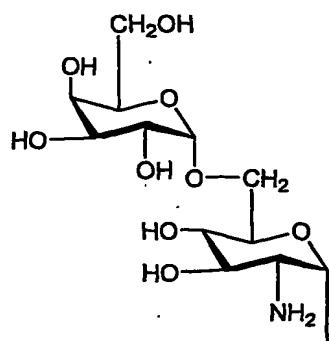
R⁸²:



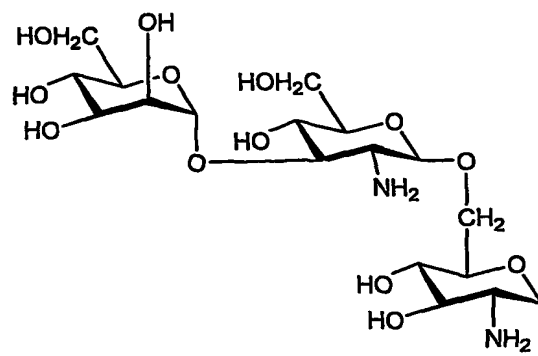
R⁸⁴:



R⁸³:

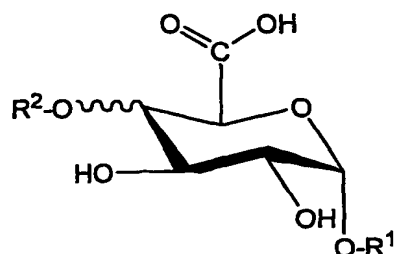


R⁸⁵:



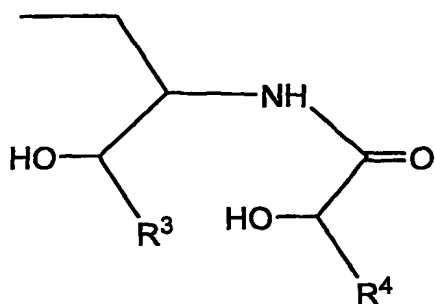
5. 下記式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とするIFN- γ 産生促進用組成物。

式(1)



(式(1)中、 R^1 は、下記式(1-1)

式(1-1)

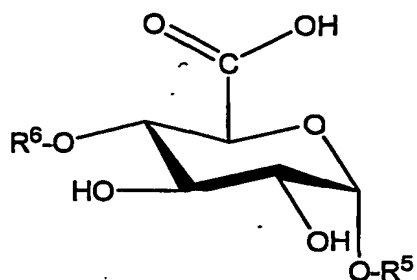


(式(1-1)中、 R^3 は、アルキル基またはアルケニル基であり、 R^4 は、アルキル基である。)を表し、

R^2 は、水素原子または、 α -ガラクトース基、 α -グルコース基、 α -マンノース基、 α -グルコサミン基若しくは β -グルコサミン基またはこれらの組み合わせからなる基である。)

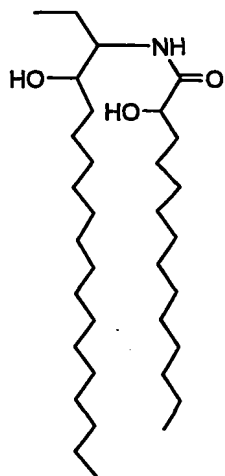
6. 前記式(1)は、下記式(3)で表される、請求項5に記載のIFN- γ 産生促進用組成物。

式(3)

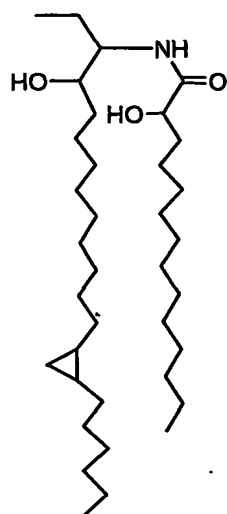


(式(3)中、 R^5 は、下記 R^{51} 、 R^{52} 、 R^{53} 、 R^{54} 、 R^{55} 、 R^{56} 、 R^{57} 、 R^{58} 、 R^{59} 、 R^{70} 、 R^{71} 、 R^{72} 、 R^{73} 、 R^{74} 、 R^{75} 、 R^{76} 、 R^{77} 又は R^{78} を表し、 R^6 は、水素原子、 R^{62} 、 R^{63} 、 R^{64} 又は R^{65} を表す。)

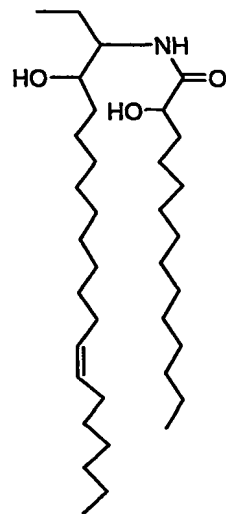
R^{51} :

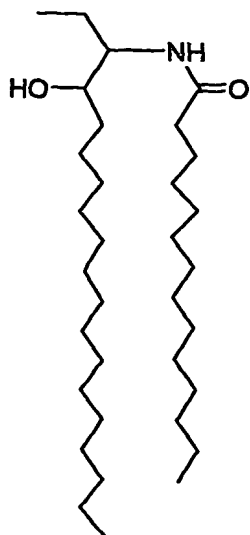
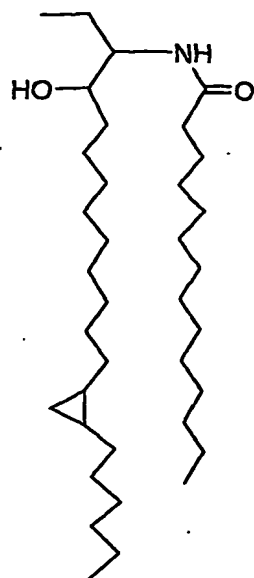
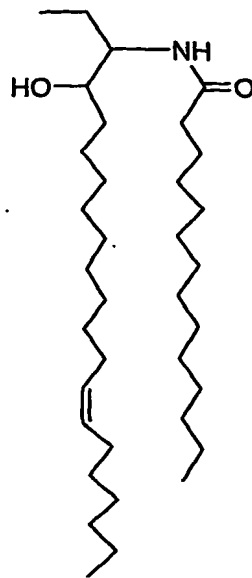
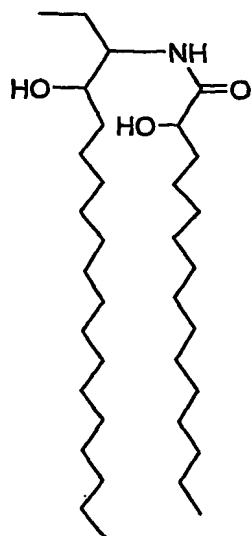
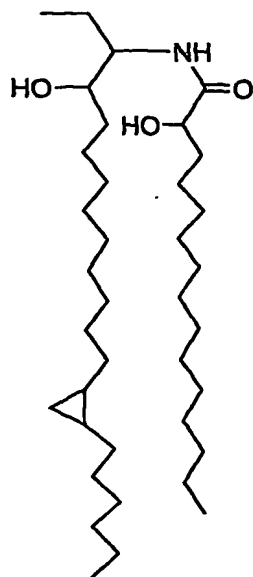
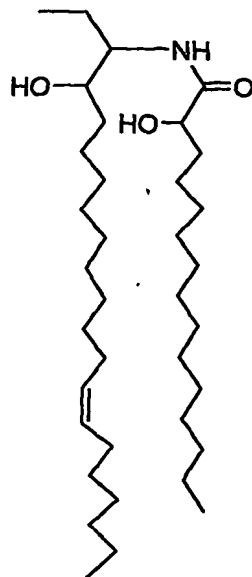


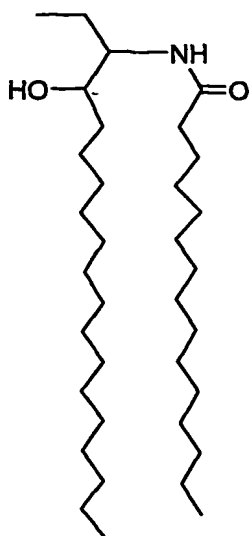
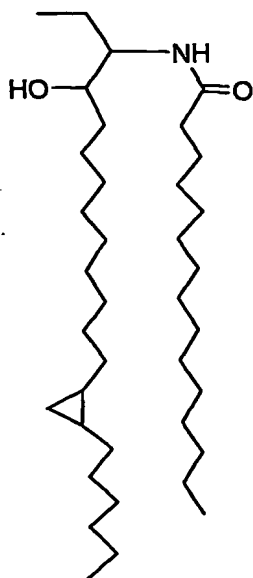
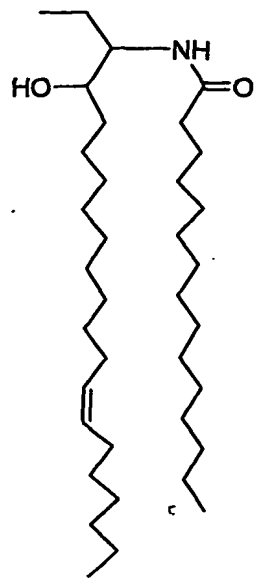
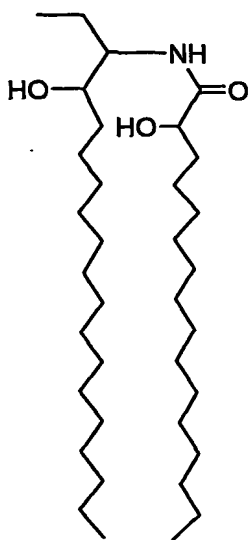
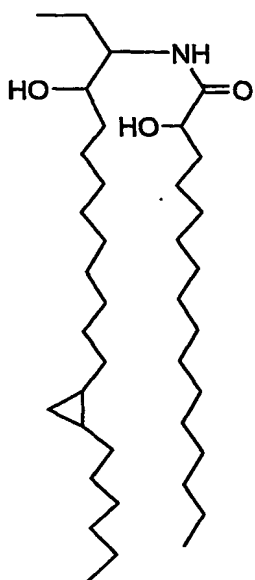
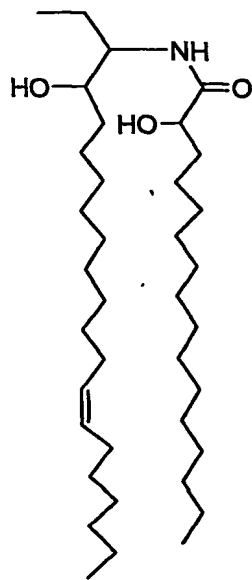
R^{52} :



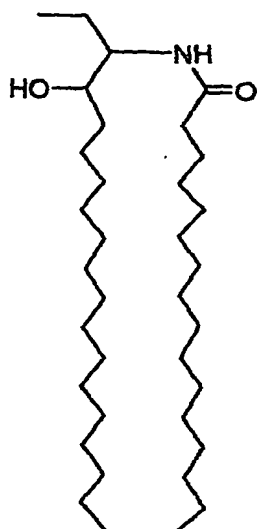
R^{53} :



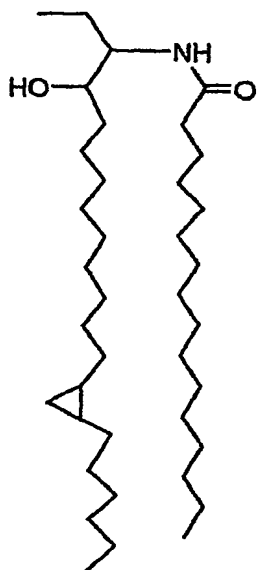
R⁵⁴ :R⁵⁵ :R⁵⁶ :R⁵⁷ :R⁵⁸ :R⁵⁹ :

R⁷⁰ :R⁷¹ :R⁷² :R⁷³ :R⁷⁴ :R⁷⁵ :

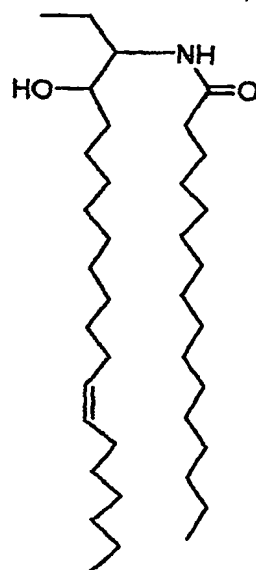
R⁷⁶ :



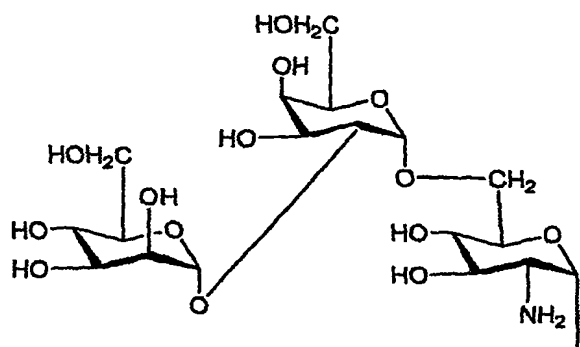
R⁷⁷ :



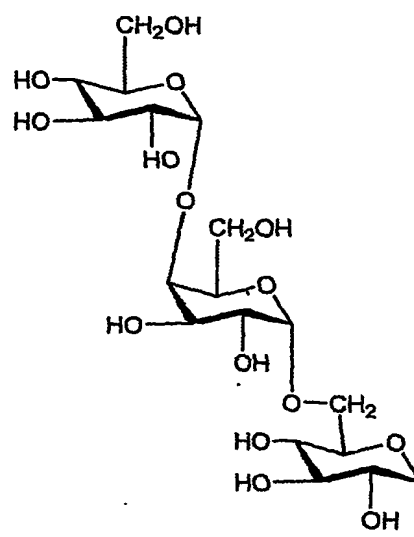
R⁷⁸ :



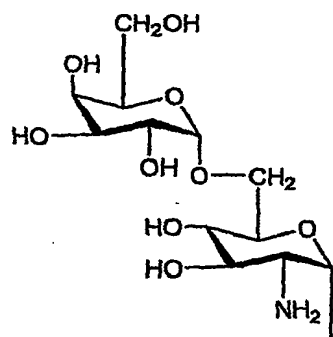
R⁸² :



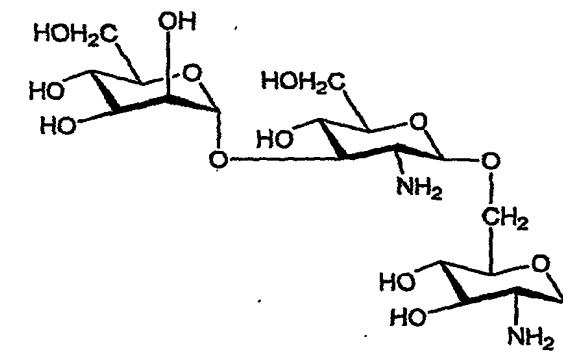
R⁸⁴ :



R⁸³ :

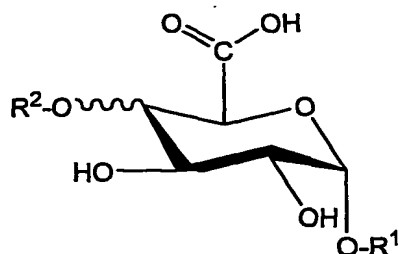


R⁸⁵ :



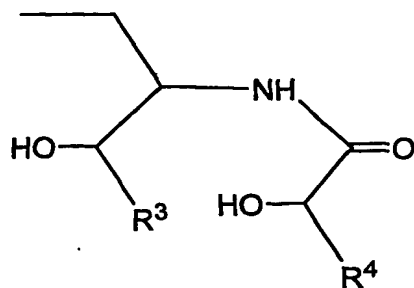
7. 下記式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とする樹状細胞活性化用組成物。

式(1)



(式(1)中、 R^1 は、下記式(1-1)

式(1-1)

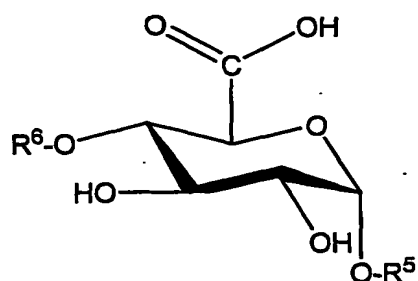


(式(1-1)中、 R^3 は、アルキル基またはアルケニル基であり、 R^4 は、アルキル基である。)を表し、

R^2 は、水素原子または、 α -ガラクトース基、 α -グルコース基、 α -マンノース基、 α -グルコサミン基若しくは β -グルコサミン基またはこれらの組み合わせからなる基である。)

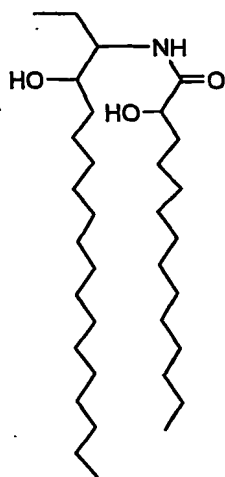
8. 前記式(1)は、下記式(3)で表される、請求項7に記載の樹状細胞活性化用組成物。

式(3)

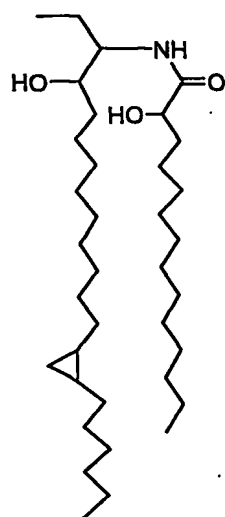


(式(3)中、 R^5 は、下記 R^{51} 、 R^{52} 、 R^{53} 、 R^{54} 、 R^{55} 、 R^{56} 、 R^{57} 、 R^{58} 、 R^{59} 、 R^{70} 、 R^{71} 、 R^{72} 、 R^{73} 、 R^{74} 、 R^{75} 、 R^{76} 、 R^{77} 又は R^{78} を表し、 R^6 は、水素原子、 R^{62} 、 R^{63} 、 R^{64} 又は R^{65} を表す。)

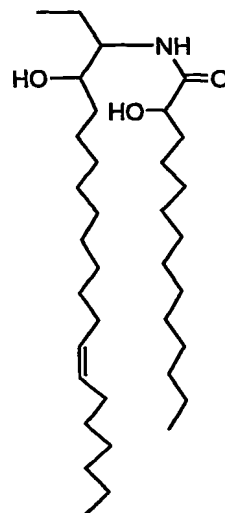
R^{51} :



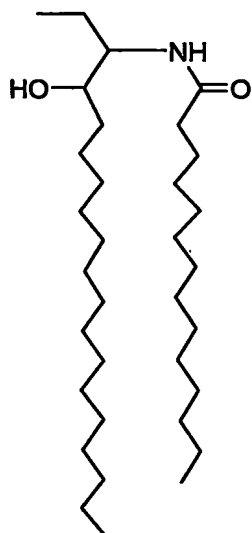
R^{52} :



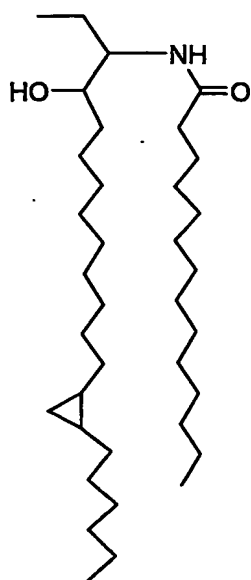
R^{53} :



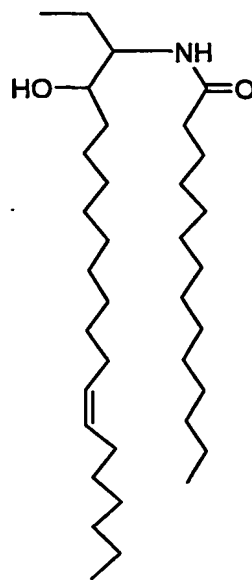
R⁵⁴ :



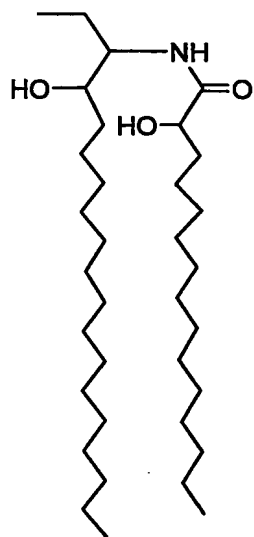
R⁵⁵ :



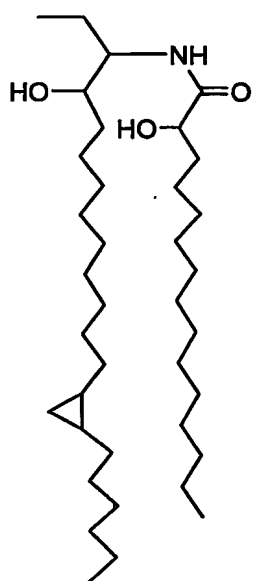
R⁵⁶ :



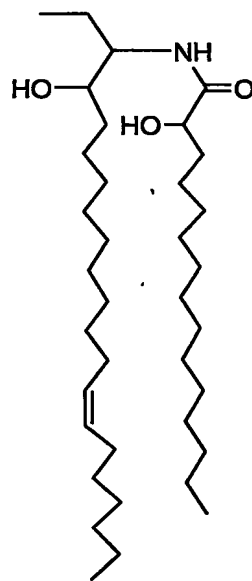
R⁵⁷ :

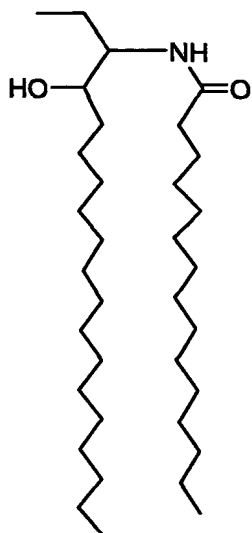
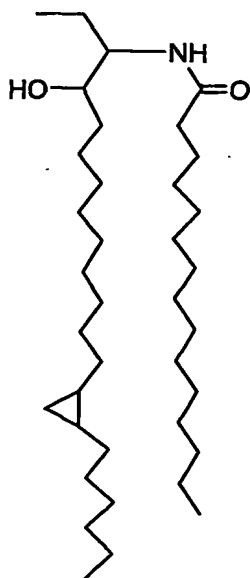
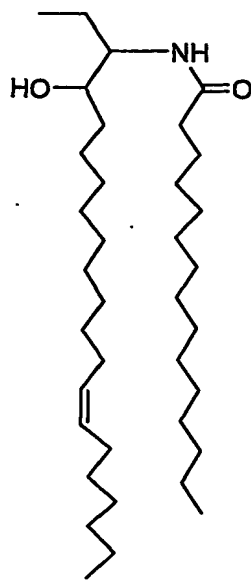
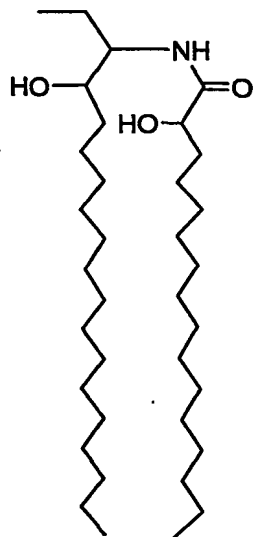
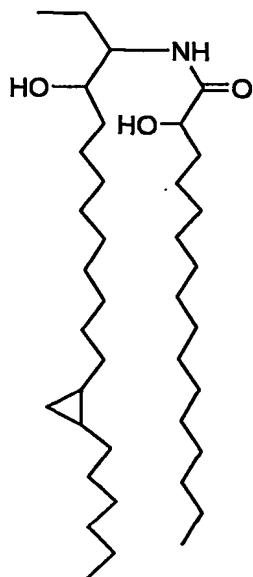
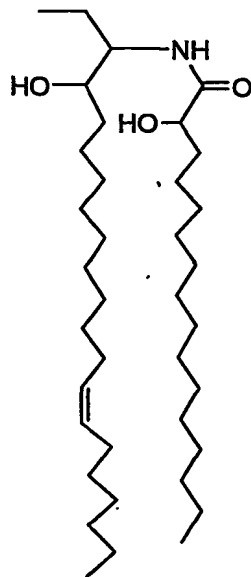


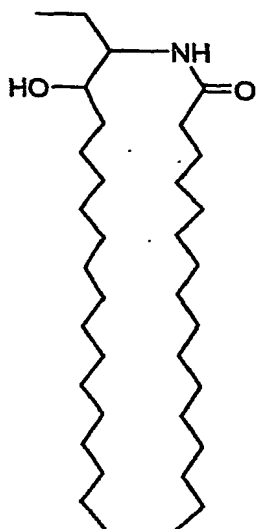
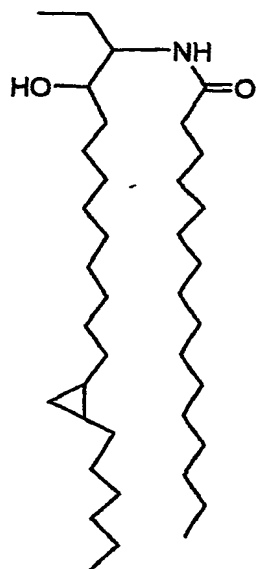
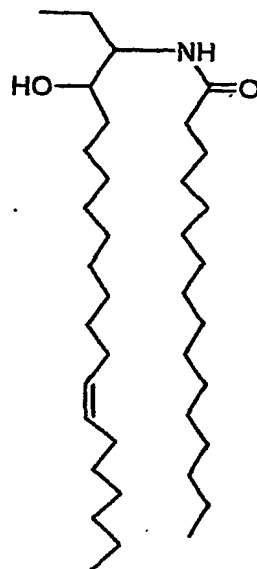
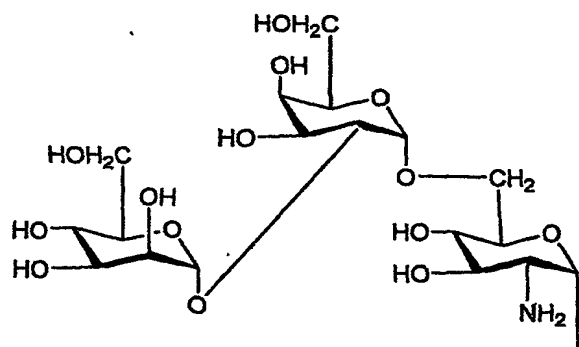
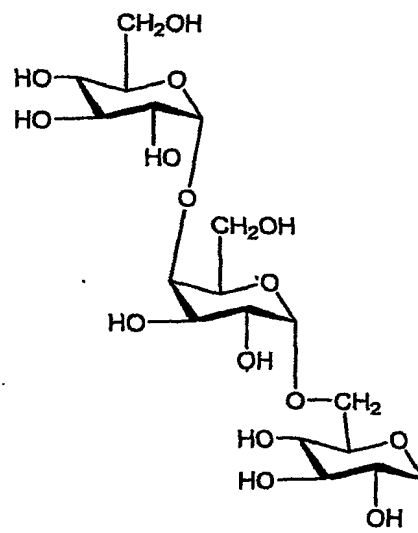
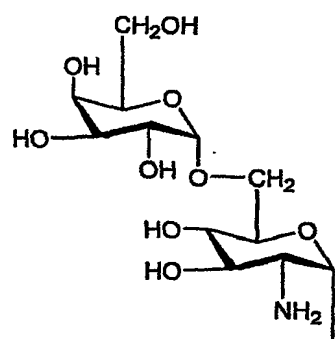
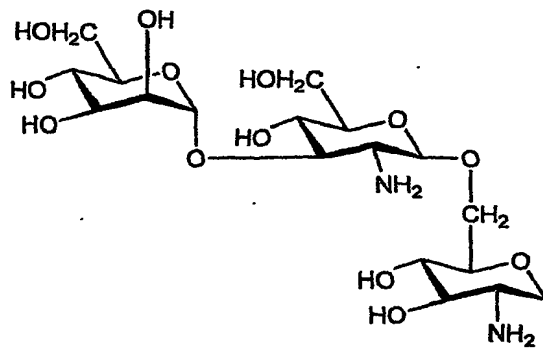
R⁵⁸ :



R⁵⁹ :

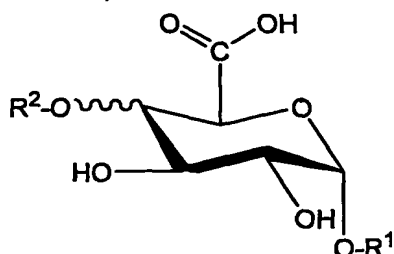


R⁷⁰ :R⁷¹ :R⁷² :R⁷³ :R⁷⁴ :R⁷⁵ :

R⁷⁶:R⁷⁷:R⁷⁸:R⁶²:R⁶⁴:R⁶³:R⁶⁵:

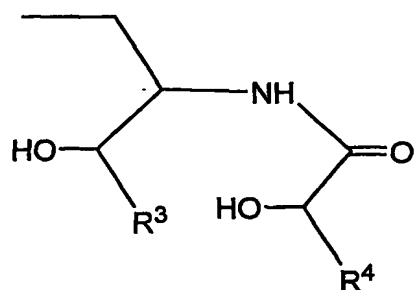
9. 下記式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とするIL-12産生促進用組成物。

式(1)



(式(1)中、R¹は、下記式(1-1)

式(1-1)

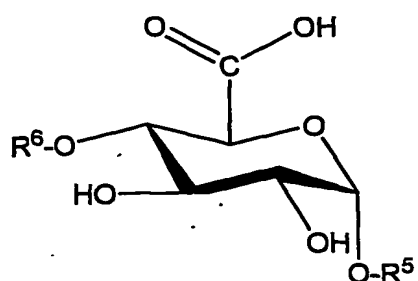


(式(1-1)中、R³は、アルキル基またはアルケニル基であり、R⁴は、アルキル基である。)を表し、

R²は、水素原子または、α-ガラクトース基、α-グルコース基、α-マンノース基、α-グルコサミン基若しくはβ-グルコサミン基またはこれらの組み合わせからなる基である。)を表し、

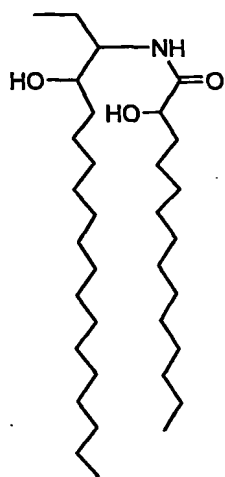
10. 前記式(1)は、下記式(3)で表される、請求項9に記載のIL-12産生促進用組成物。

式(3)

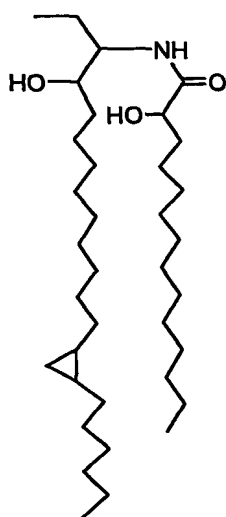


(式(3)中、 R^5 は、下記 R^{51} 、 R^{52} 、 R^{53} 、 R^{54} 、 R^{55} 、 R^{56} 、 R^{57} 、 R^{58} 、 R^{59} 、 R^{70} 、 R^{71} 、 R^{72} 、 R^{73} 、 R^{74} 、 R^{75} 、 R^{76} 、 R^{77} 又は R^{78} を表し、 R^6 は、水素原子、 R^{62} 、 R^{63} 、 R^{64} 又は R^{65} を表す。)

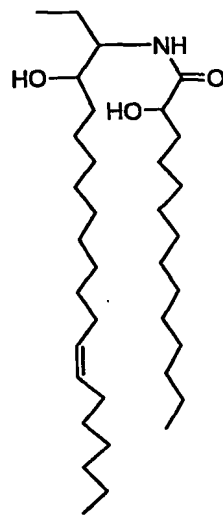
R^{51} :

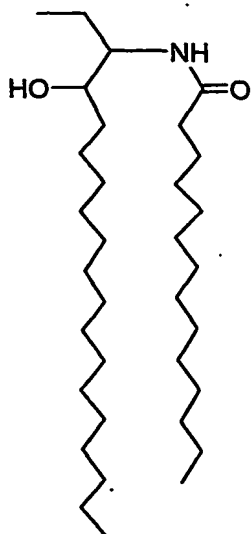
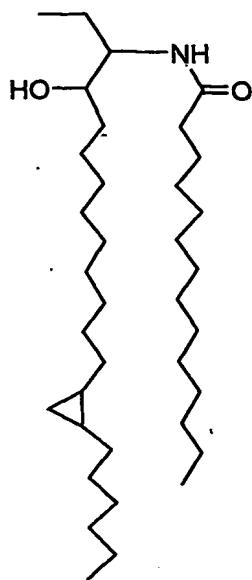
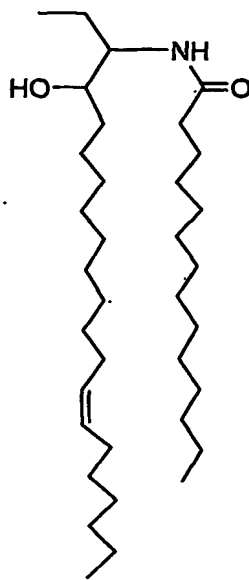
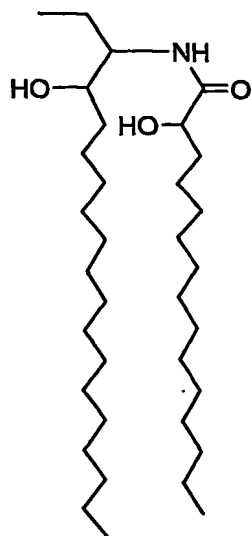
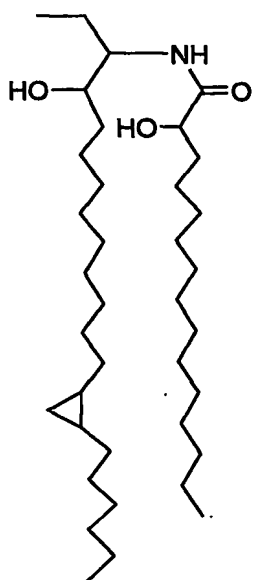
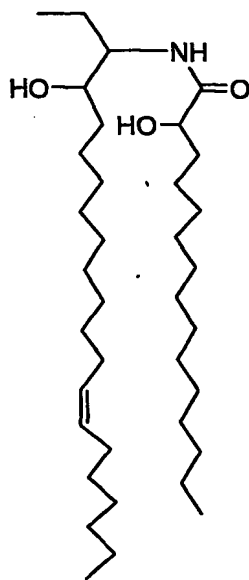


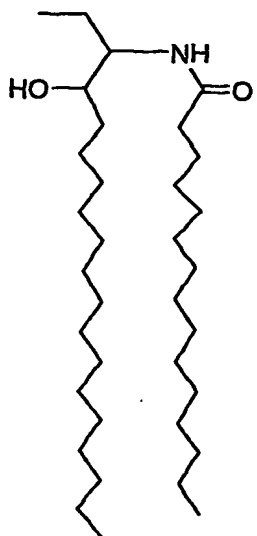
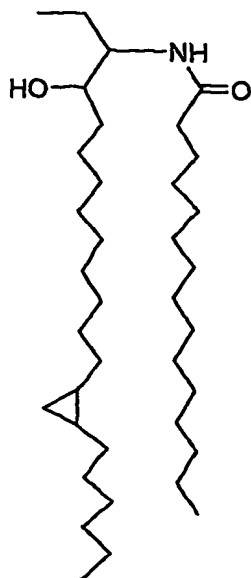
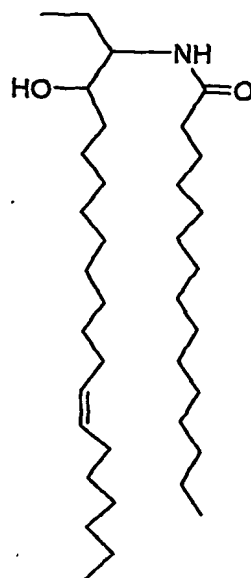
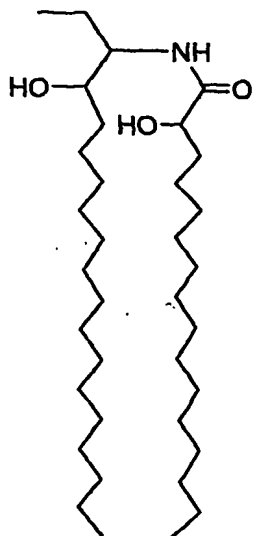
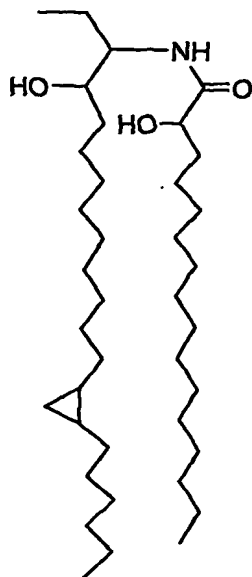
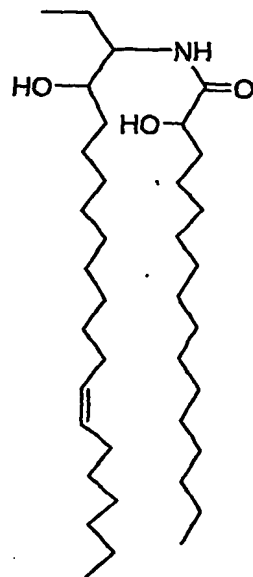
R^{52} :



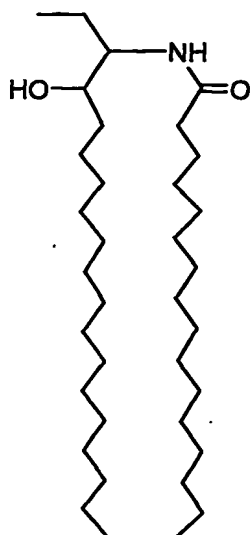
R^{53} :



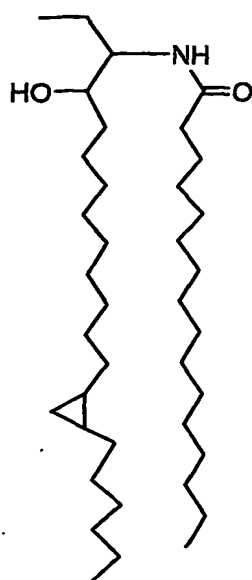
R⁵⁴ :R⁵⁵ :R⁵⁶ :R⁵⁷ :R⁵⁸ :R⁵⁹ :

R⁷⁰ :R⁷¹ :R⁷² :R⁷³ :R⁷⁴ :R⁷⁵ :

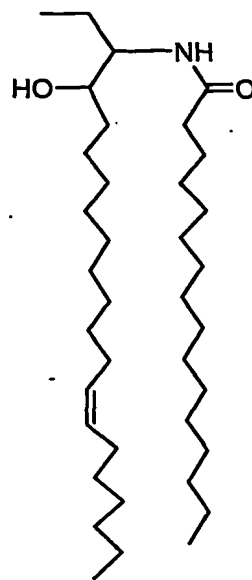
R⁷⁶ :



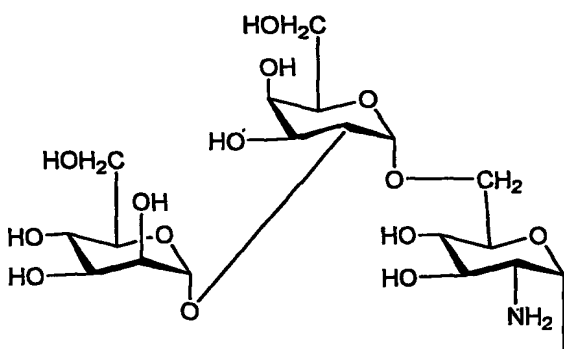
R⁷⁷ :



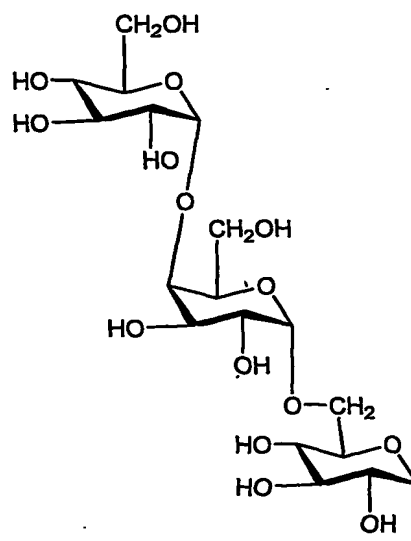
R⁷⁸ :



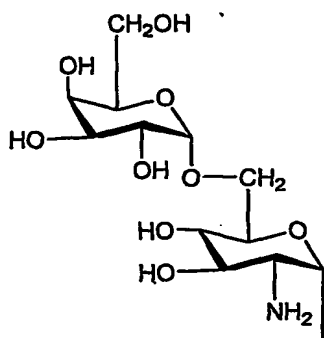
R⁶² :



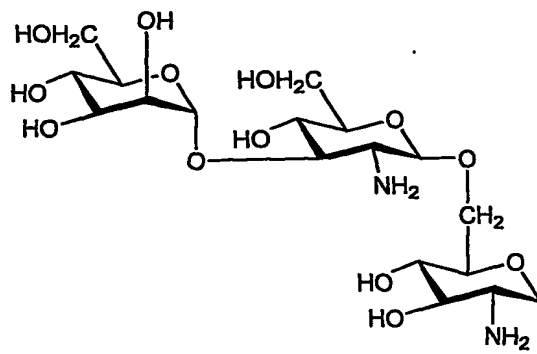
R⁶⁴ :



R⁶³ :

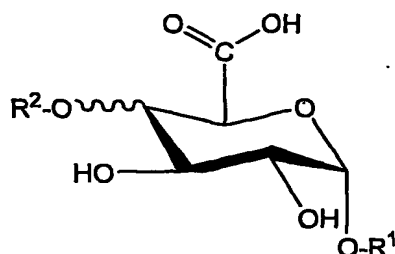


R⁶⁵ :



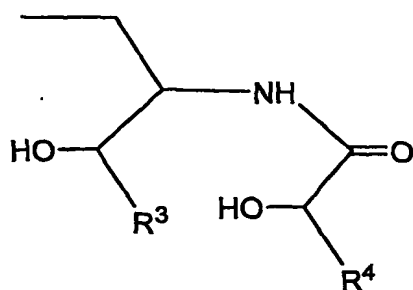
11. 下記式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とするIL-10産生促進用組成物。

式(1)



(式(1)中、 R^1 は、下記式(1-1)

式(1-1)

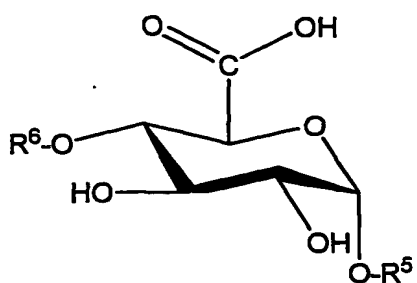


(式(1-1)中、 R^3 は、アルキル基またはアルケニル基であり、 R^4 は、アルキル基である。)を表し、

R^2 は、水素原子または、 α -ガラクトース基、 α -グルコース基、 α -マンノース基、 α -グルコサミン基若しくは β -グルコサミン基またはこれらの組み合わせからなる基である。)

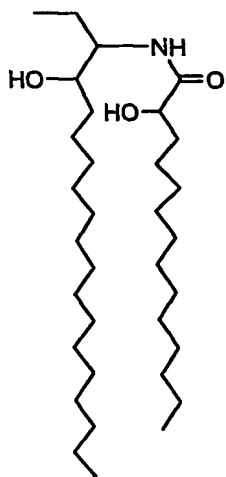
12. 前記式(1)は、下記式(3)で表される、請求項11に記載のIL-10産生促進用組成物。

式(3)

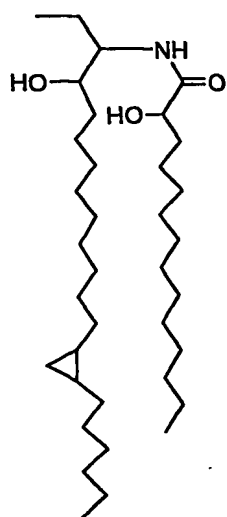


(式(3)中、 R^5 は、下記 R^{51} 、 R^{52} 、 R^{53} 、 R^{54} 、 R^{55} 、 R^{56} 、 R^{57} 、 R^{58} 、 R^{59} 、 R^{70} 、 R^{71} 、 R^{72} 、 R^{73} 、 R^{74} 、 R^{75} 、 R^{76} 、 R^{77} 又は R^{78} を表し、 R^6 は、水素原子、 R^{62} 、 R^{63} 、 R^{64} 又は R^{65} を表す。)

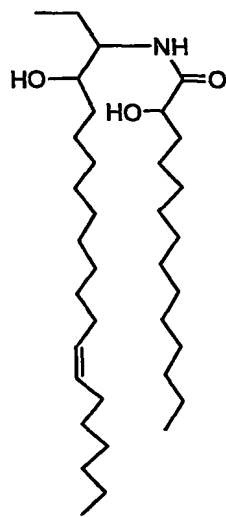
R^{51} :



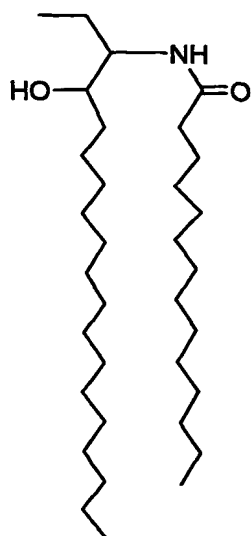
R^{52} :



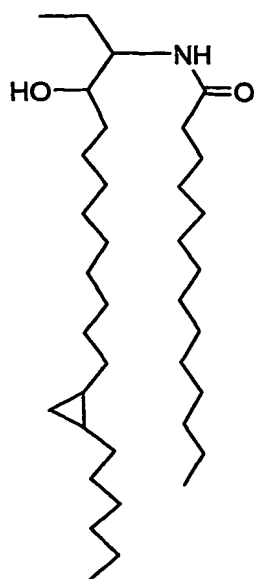
R^{53} :



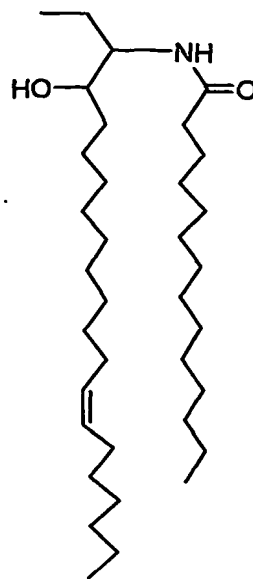
R⁵⁴ :



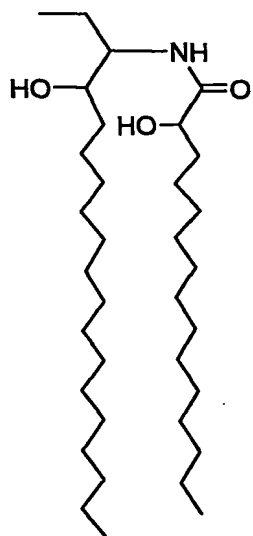
R⁵⁵ :



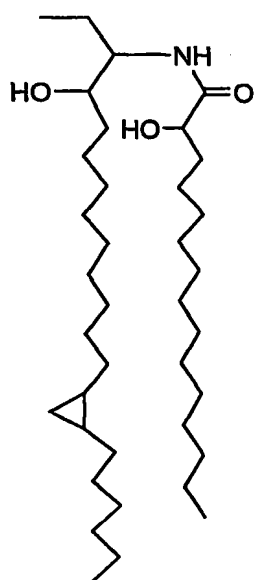
R⁵⁶ :



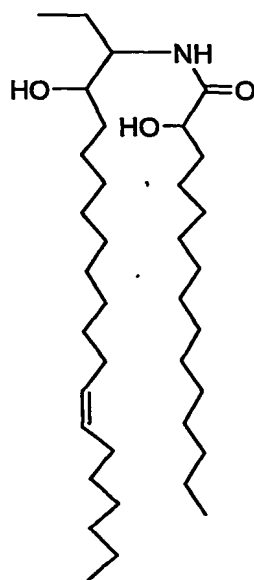
R⁵⁷ :



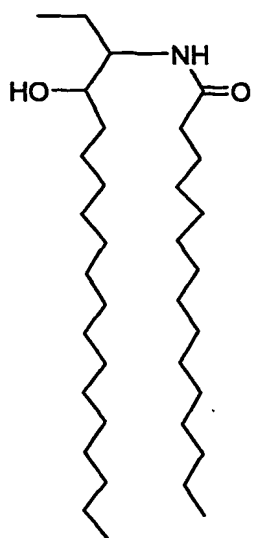
R⁵⁸ :



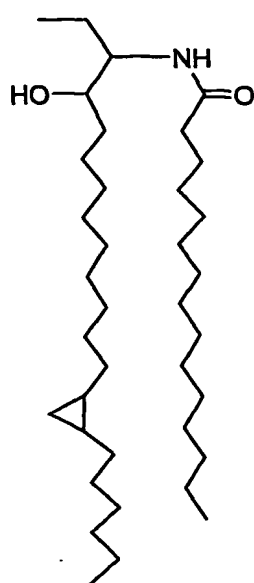
R⁵⁹ :



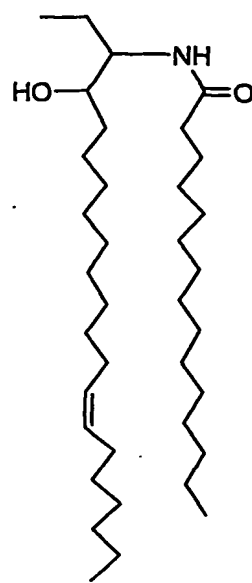
R⁷⁰ :



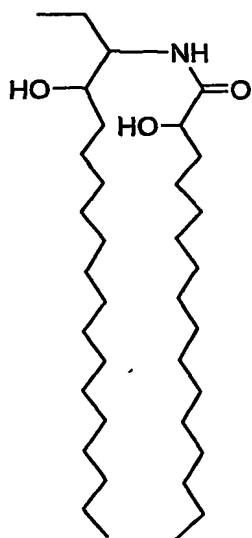
R⁷¹ :



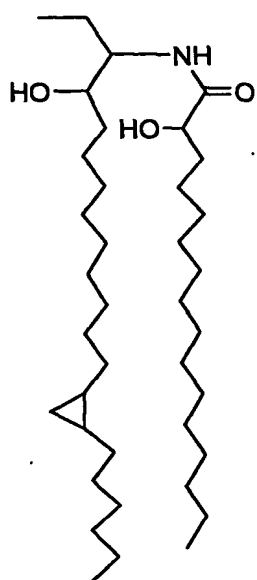
R⁷² :



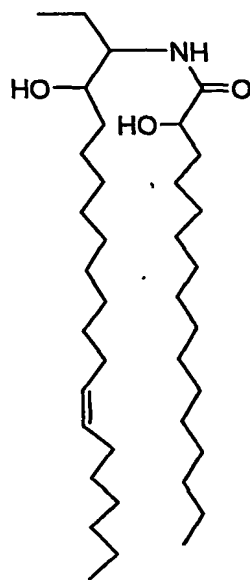
R⁷³ :



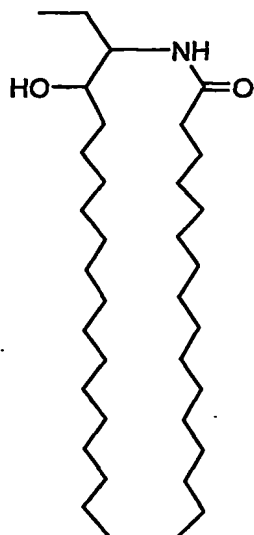
R⁷⁴ :



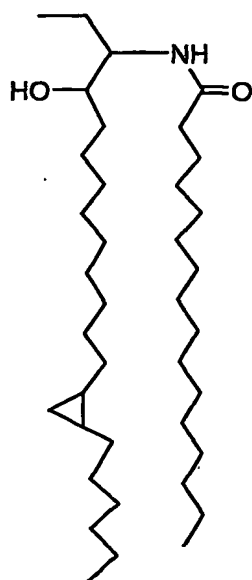
R⁷⁵ :



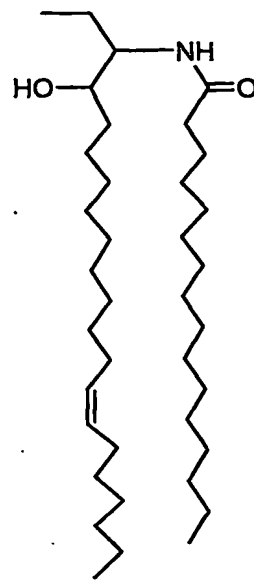
R⁷⁶:



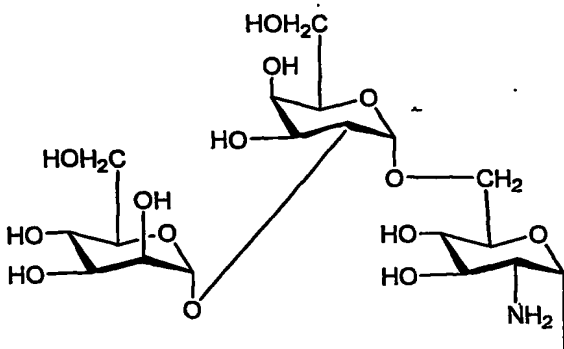
R⁷⁷:



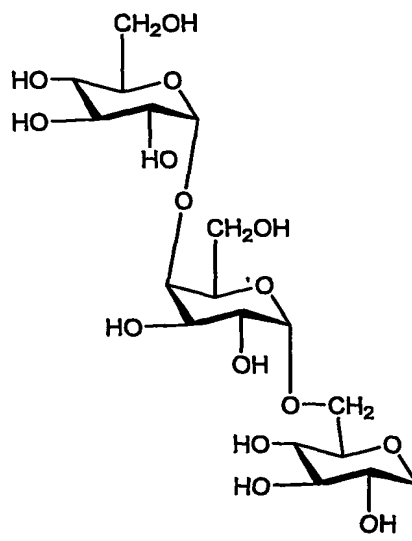
R⁷⁸:



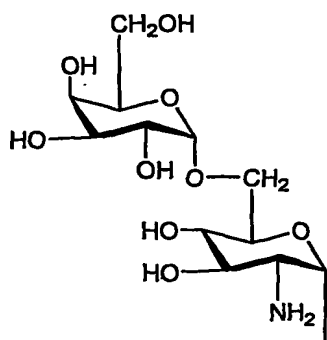
R⁸²:



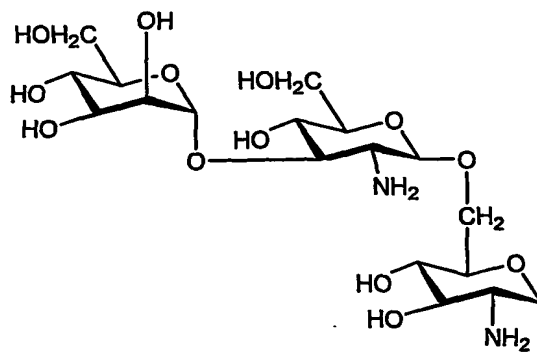
R⁸⁴:



R⁸³:

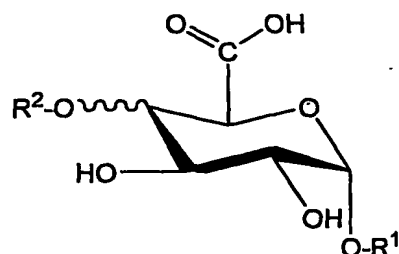


R⁸⁵:



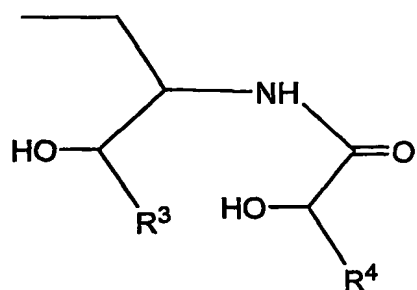
13. 下記式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とするNK細胞活性化用組成物。

式(1)



(式(1)中、 R^1 は、下記式(1-1)

式(1-1)

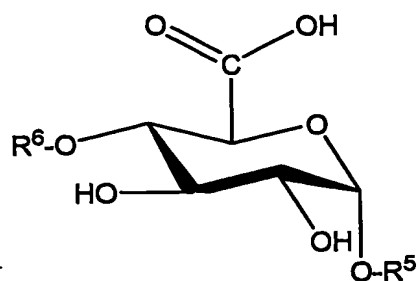


(式(1-1)中、 R^3 は、アルキル基またはアルケニル基であり、 R^4 は、アルキル基である。)を表し、

R^2 は、水素原子または、 α -ガラクトース基、 α -グルコース基、 α -マンノース基、 α -グルコサミン基若しくは β -グルコサミン基またはこれらの組み合わせからなる基である。)

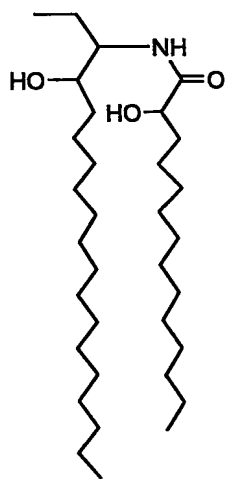
14. 前記式(1)は、下記式(3)で表される、請求項13に記載のNK細胞活性化用組成物。

式(3)

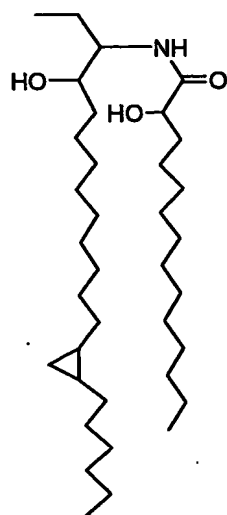


(式(3)中、 R^5 は、下記 R^{51} 、 R^{52} 、 R^{53} 、 R^{54} 、 R^{55} 、 R^{56} 、 R^{57} 、 R^{58} 、 R^{59} 、 R^{70} 、 R^{71} 、 R^{72} 、 R^{73} 、 R^{74} 、 R^{75} 、 R^{76} 、 R^{77} 又は R^{78} を表し、 R^6 は、水素原子、 R^{62} 、 R^{63} 、 R^{64} 又は R^{65} を表す。)

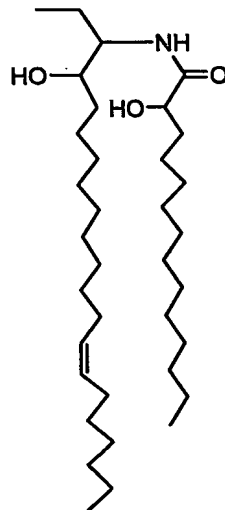
R^{51} :

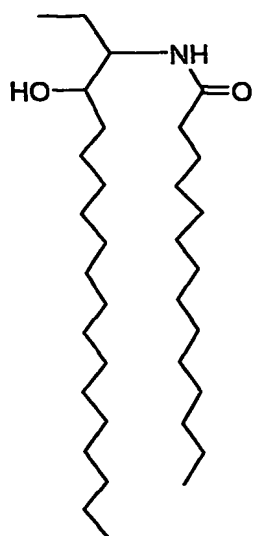
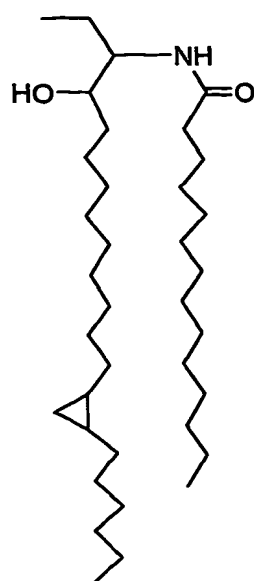
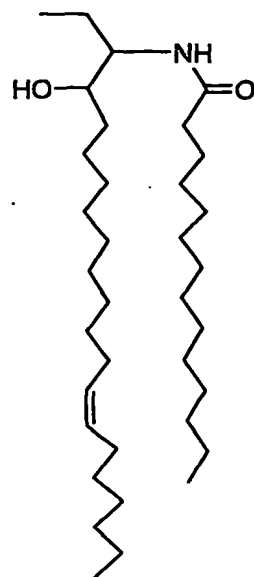
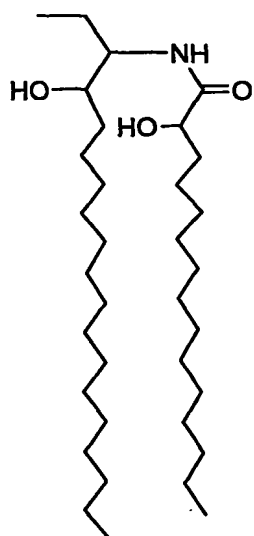
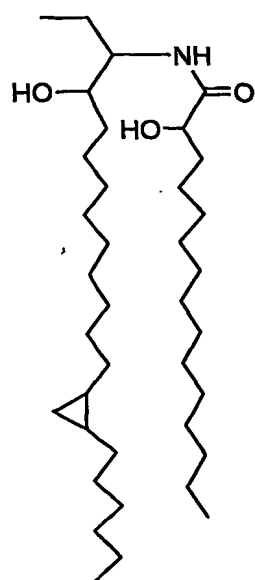
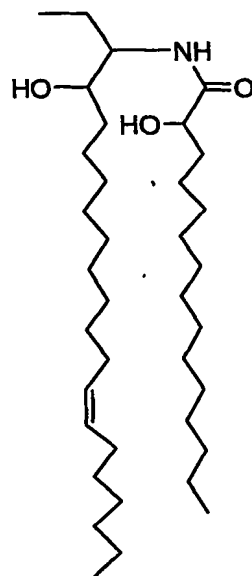


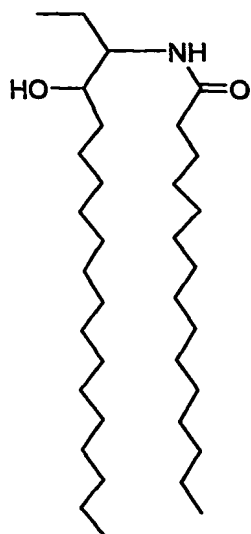
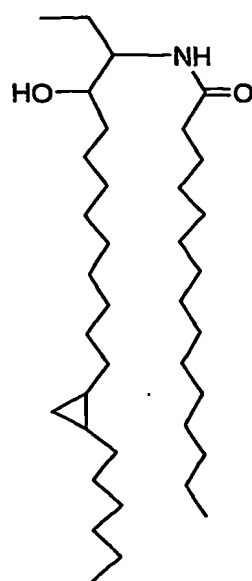
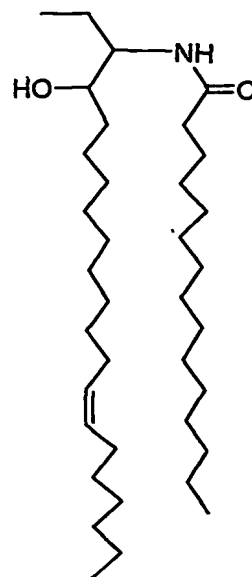
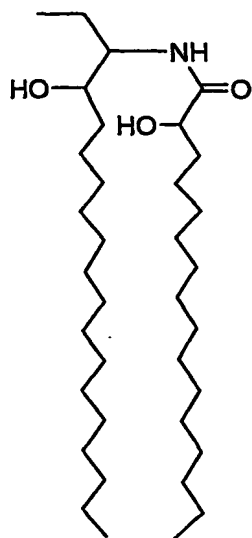
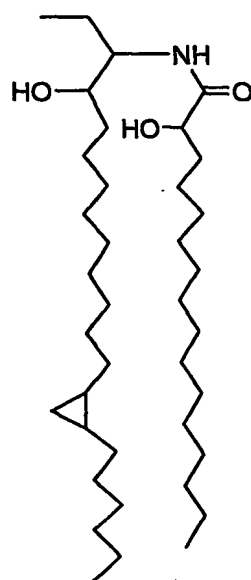
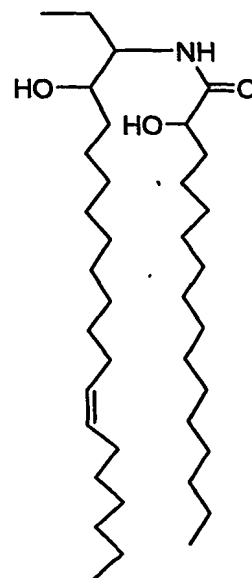
R^{52} :



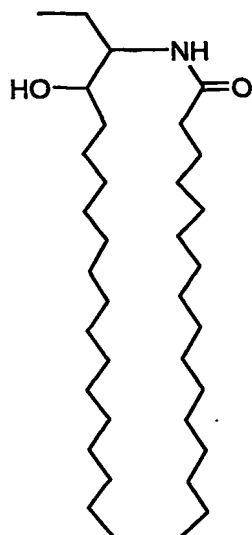
R^{53} :



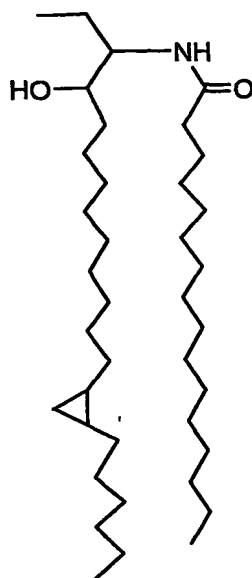
R⁵⁴ :R⁵⁵ :R⁵⁶ :R⁵⁷ :R⁵⁸ :R⁵⁹ :

R⁷⁰ :R⁷¹ :R⁷² :R⁷³ :R⁷⁴ :R⁷⁵ :

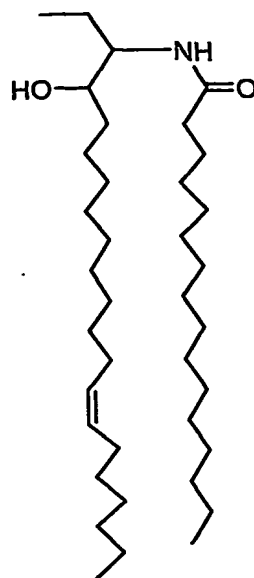
R⁷⁶ :



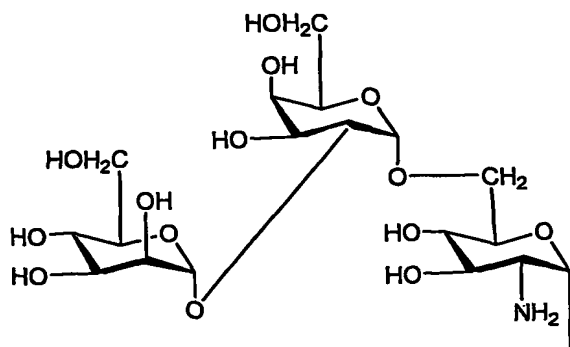
R⁷⁷ :



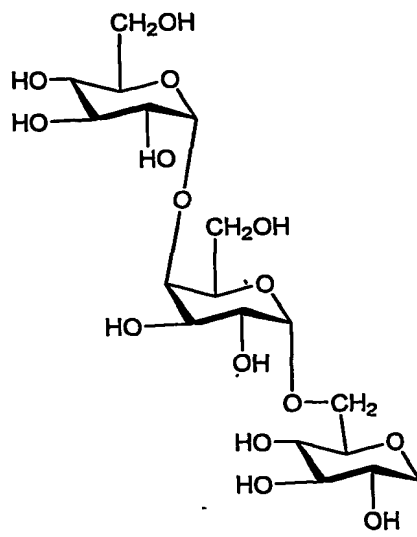
R⁷⁸ :



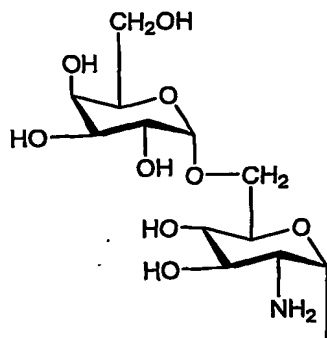
R⁸² :



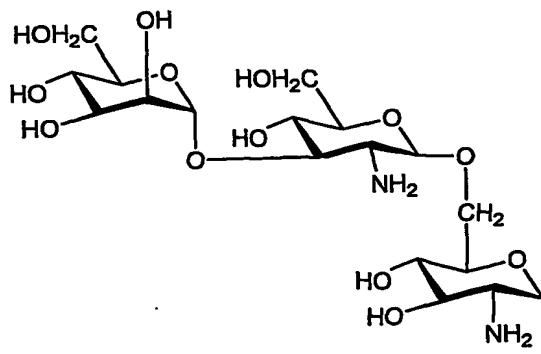
R⁸⁴ :



R⁸³ :

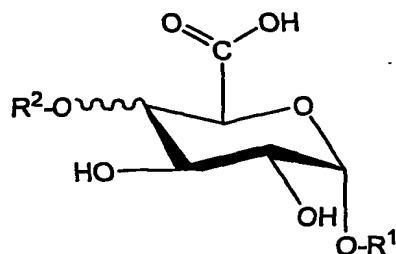


R⁸⁵ :



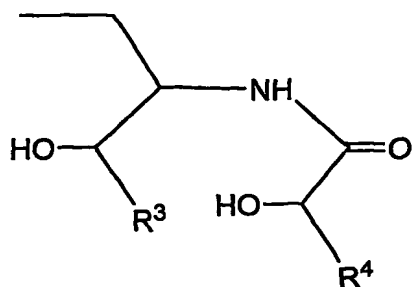
15. 下記式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とする抗腫瘍作用組成物。

式(1)



(式(1)中、 R^1 は、下記式(1-1)

式(1-1)

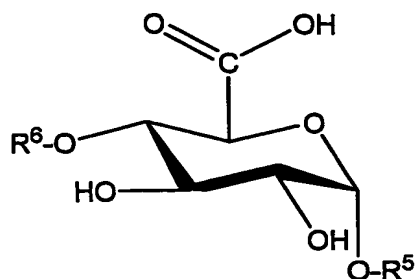


(式(1-1)中、 R^3 は、アルキル基またはアルケニル基であり、 R^4 は、アルキル基である。)を表し、

R^2 は、水素原子または、 α -ガラクトース基、 α -グルコース基、 α -マンノース基、 α -グルコサミン基若しくは β -グルコサミン基またはこれらの組み合わせからなる基である。)

16. 前記式(1)は、下記式(3)で表される、請求項15に記載の抗腫瘍作用組成物。

式(3)

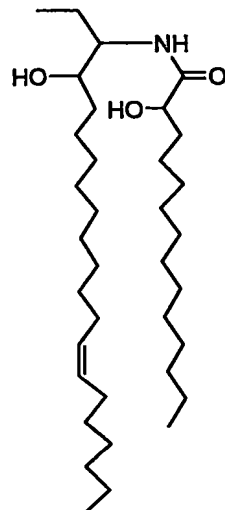
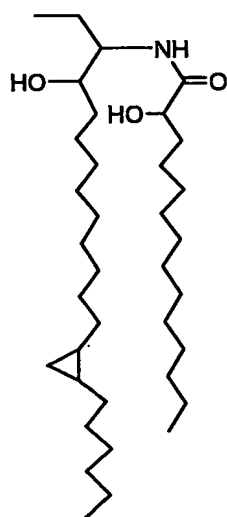
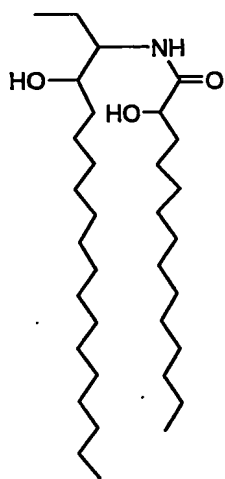


(式(3)中、 R^5 は、下記 R^{51} 、 R^{52} 、 R^{53} 、 R^{54} 、 R^{55} 、 R^{56} 、 R^{57} 、 R^{58} 、 R^{59} 、 R^{70} 、 R^{71} 、 R^{72} 、 R^{73} 、 R^{74} 、 R^{75} 、 R^{76} 、 R^{77} 又は R^{78} を表し、 R^6 は、水素原子、 R^{62} 、 R^{63} 、 R^{64} 又は R^{65} を表す。)

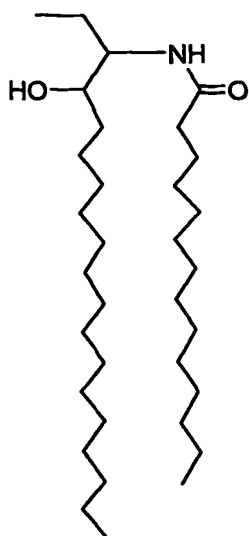
R^{51} :

R^{52} :

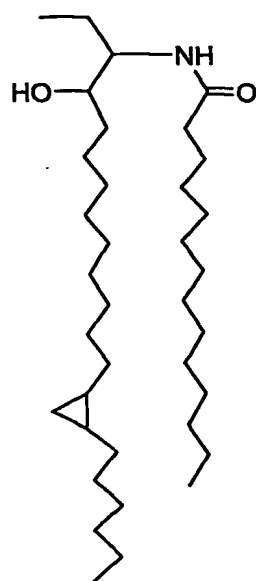
R^{53} :



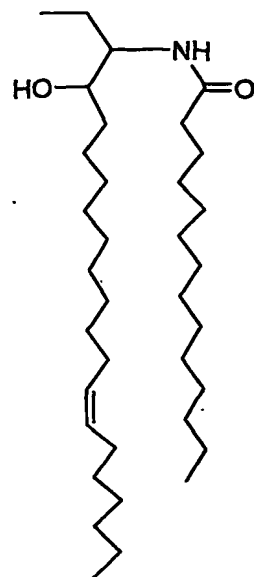
R⁵⁴ :



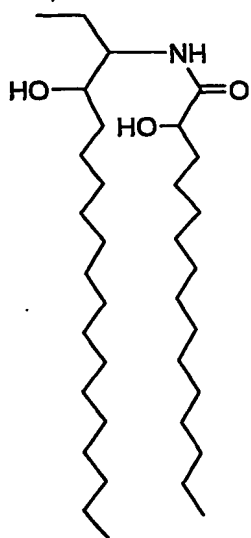
R⁵⁵ :



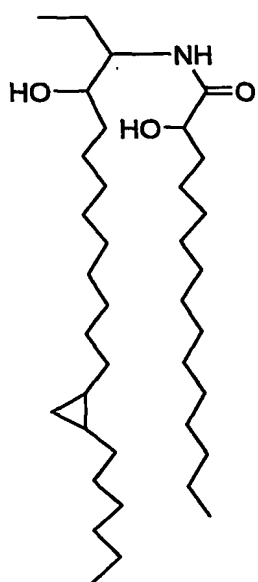
R⁵⁶ :



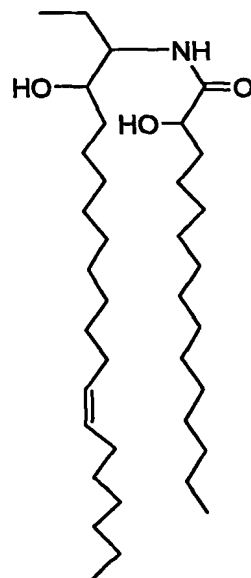
R⁵⁷ :



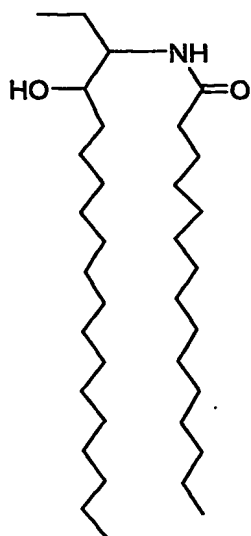
R⁵⁸ :



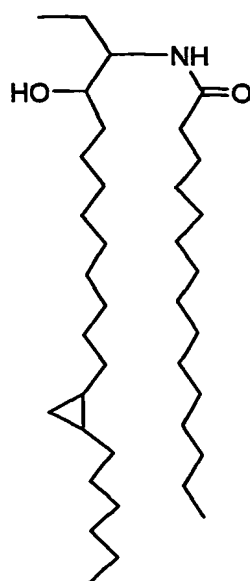
R⁵⁹ :



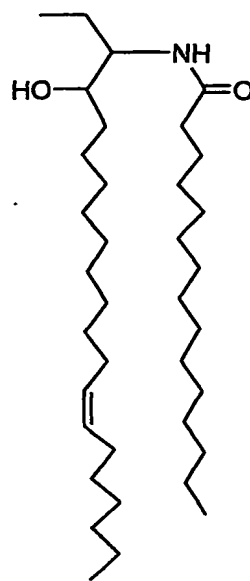
R⁷⁰ :



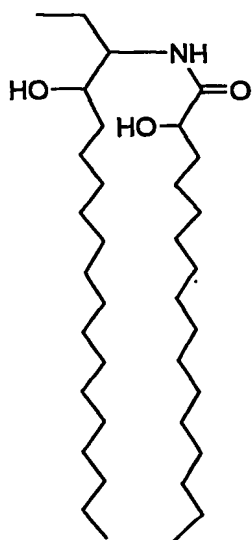
R⁷¹ :



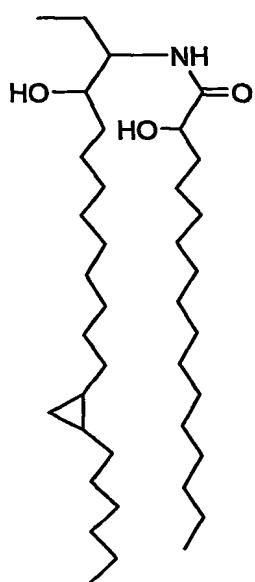
R⁷² :



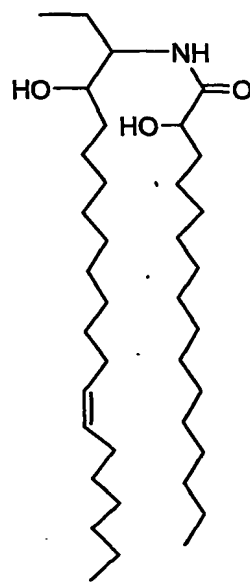
R⁷³ :



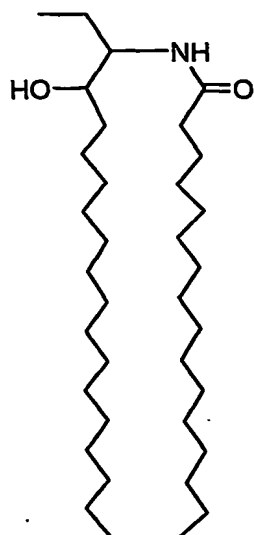
R⁷⁴ :



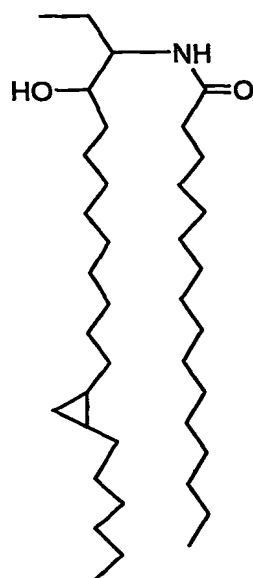
R⁷⁵ :



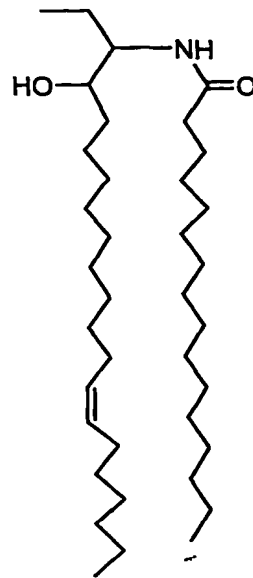
R⁷⁶:



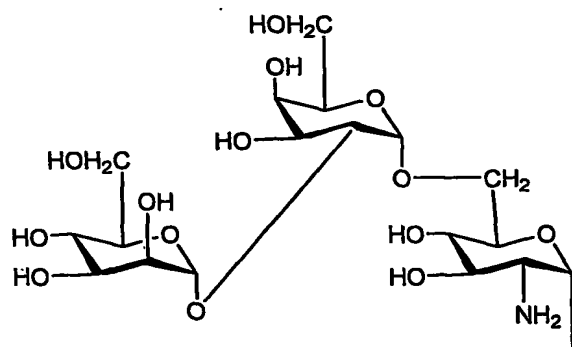
R⁷⁷:



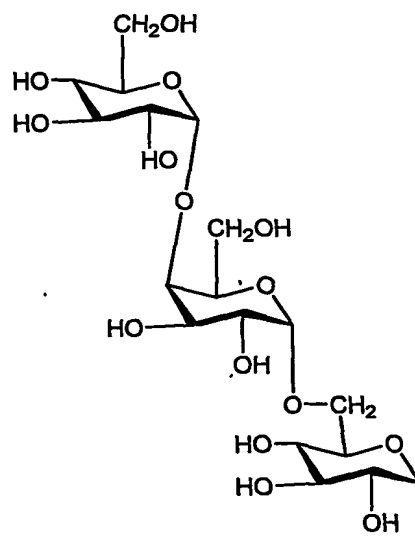
R⁷⁸:



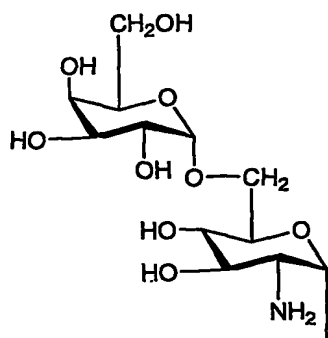
R⁶²:



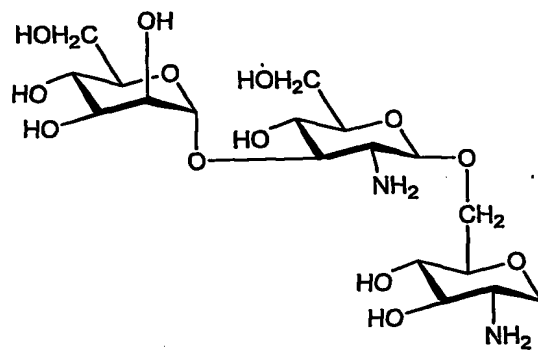
R⁶⁴:



R⁶³:

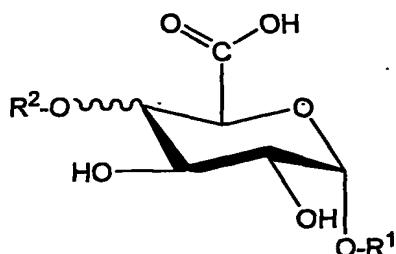


R⁶⁵:



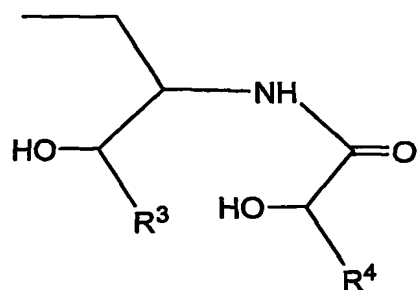
17. 下記式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とする抗アレルギー作用組成物。

式(1)



(式(1)中、 R^1 は、下記式(1-1)

式(1-1)

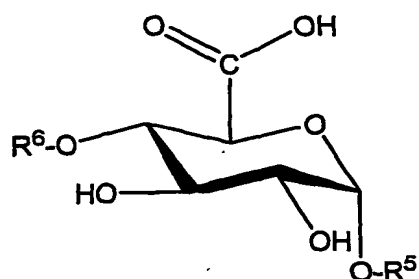


(式(1-1)中、 R^3 は、アルキル基またはアルケニル基であり、 R^4 は、アルキル基である。)を表し、

R^2 は、水素原子または、 α -ガラクトース基、 α -グルコース基、 α -マンノース基、 α -グルコサミン基若しくは β -グルコサミン基またはこれらの組み合わせからなる基である。)

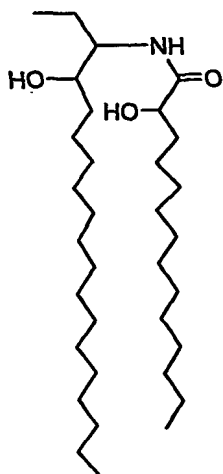
18. 前記式(1)は、下記式(3)で表される、請求項17に記載の抗アレルギー作用組成物。

式(3)

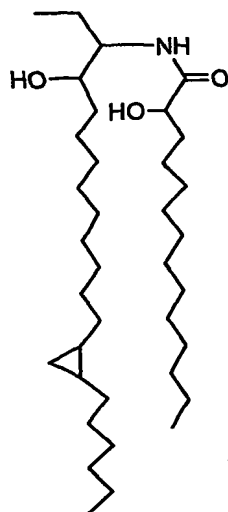


(式(3)中、 R^5 は、下記 R^{51} 、 R^{52} 、 R^{53} 、 R^{54} 、 R^{55} 、 R^{56} 、 R^{57} 、 R^{58} 、 R^{59} 、 R^{70} 、 R^{71} 、 R^{72} 、 R^{73} 、 R^{74} 、 R^{75} 、 R^{76} 、 R^{77} 又は R^{78} を表し、 R^6 は、水素原子、 R^{62} 、 R^{63} 、 R^{64} 又は R^{65} を表す。)

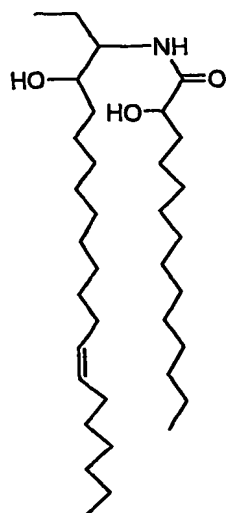
R^{51} :



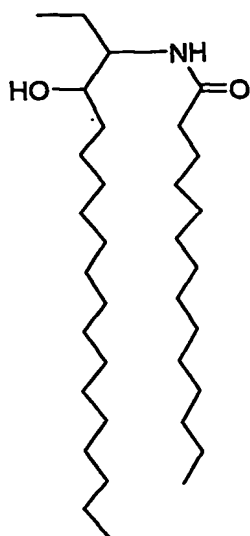
R^{52} :



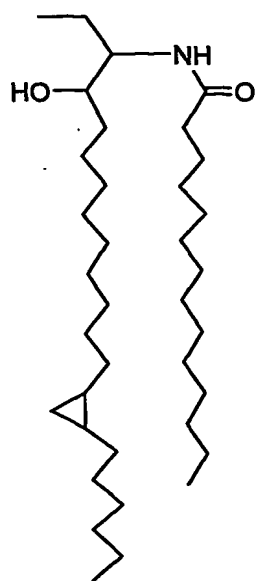
R^{53} :



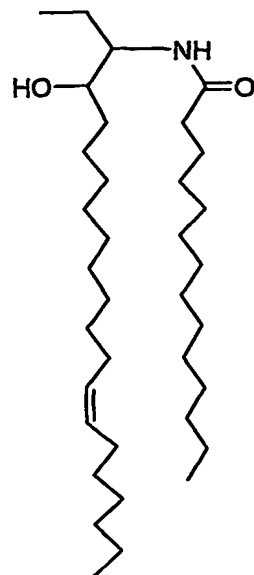
R⁵⁴ :



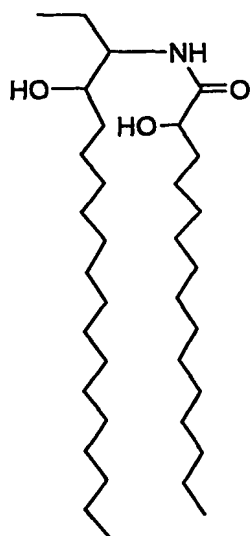
R⁵⁵ :



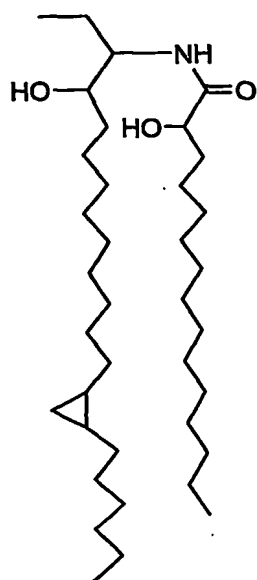
R⁵⁶ :



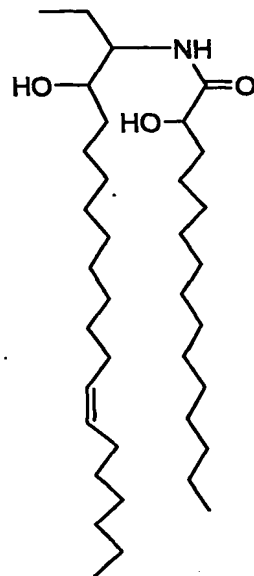
R⁵⁷ :

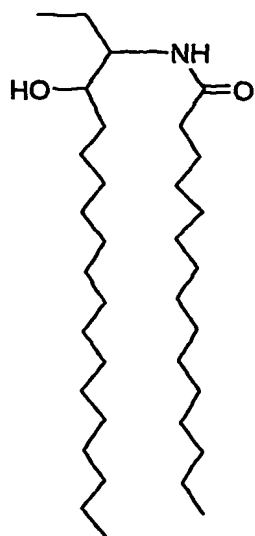
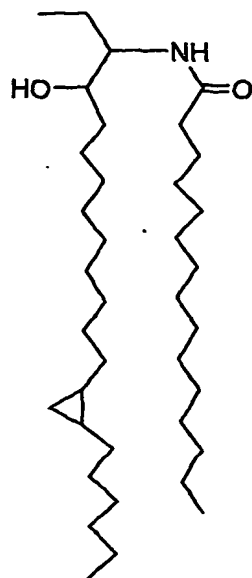
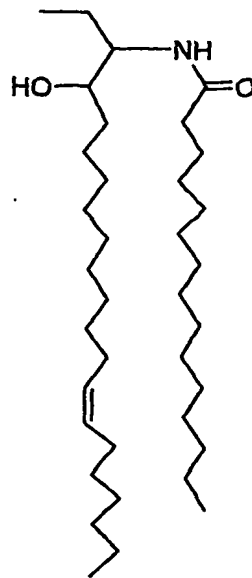
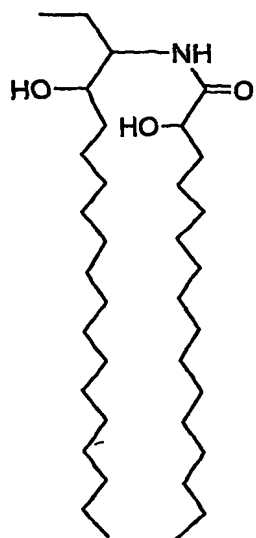
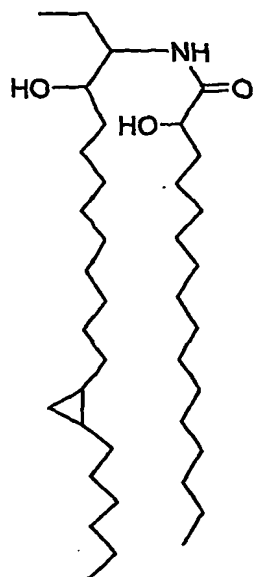
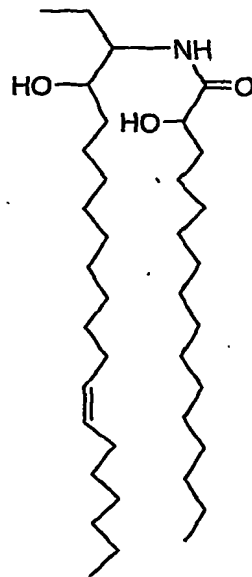


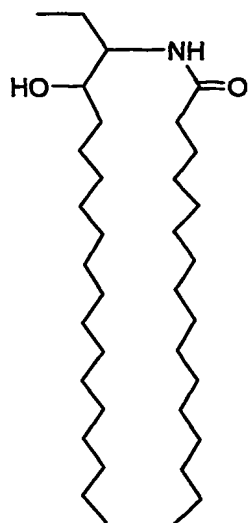
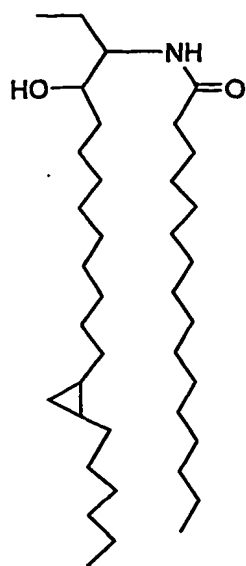
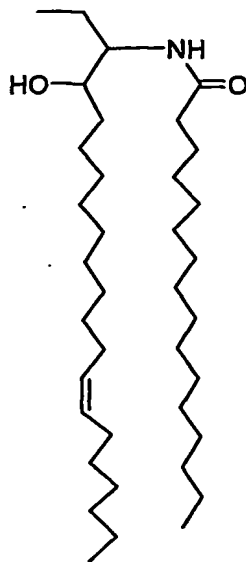
R⁵⁸ :

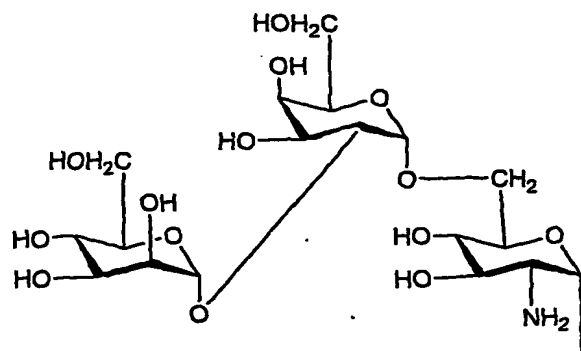
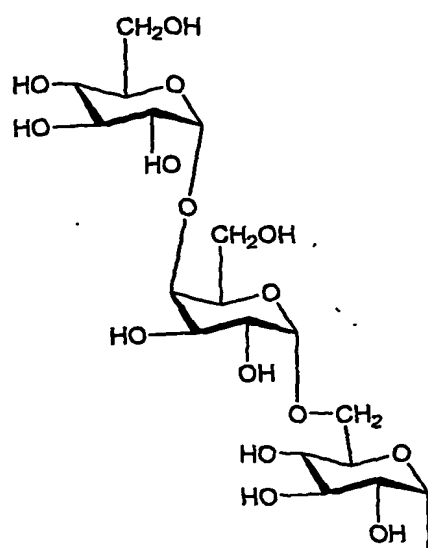
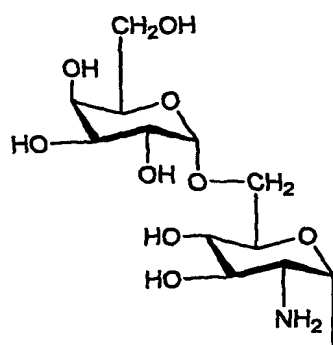
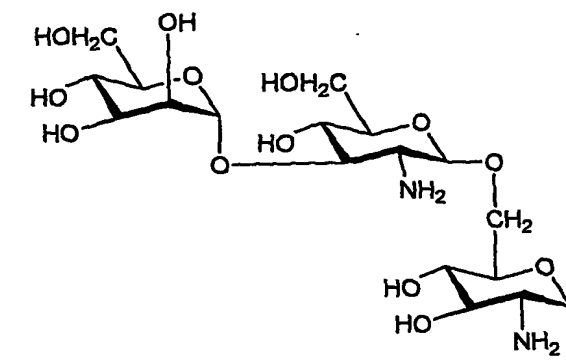


R⁵⁹ :



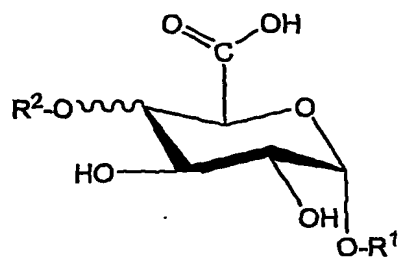
R⁷⁰ :R⁷¹ :R⁷² :R⁷³ :R⁷⁴ :R⁷⁵ :

R⁷⁶:R⁷⁷:R⁷⁸:

R⁶² :R⁶⁴ :R⁶³ :R⁶⁵ :

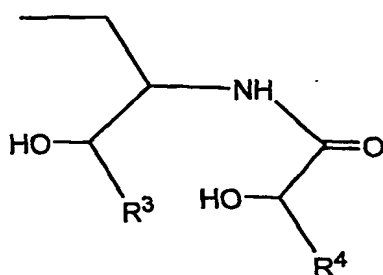
19. 下記式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とする感染抵抗性増強用組成物。

式(1)



(式(1)中、R¹は、下記式(1-1)

式(1-1)

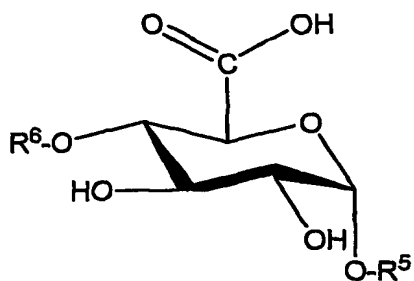


(式(1-1)中、 R^3 は、アルキル基またはアルケニル基であり、 R^4 は、アルキル基である。)を表し、

R^2 は、水素原子または、 α -ガラクトース基、 α -グルコース基、 α -マンノース基、 α -グルコサミン基若しくは β -グルコサミン基またはこれらの組み合わせからなる基である。)

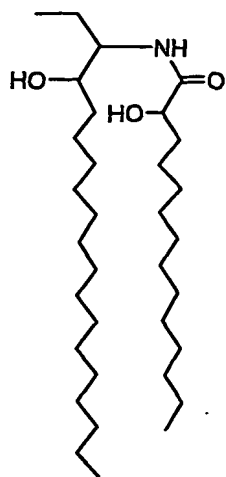
20. 前記式(1)は、下記式(3)で表される、請求項19に記載の感染抵抗性増強用組成物。

式(3)

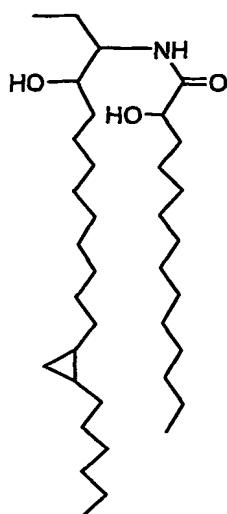


(式(3)中、 R^5 は、下記 R^{51} 、 R^{52} 、 R^{53} 、 R^{54} 、 R^{55} 、 R^{56} 、 R^{57} 、 R^{58} 、 R^{59} 、 R^{70} 、 R^{71} 、 R^{72} 、 R^{73} 、 R^{74} 、 R^{75} 、 R^{76} 、 R^{77} 又は R^{78} を表し、 R^6 は、水素原子、 R^{62} 、 R^{63} 、 R^{64} 又は R^{65} を表す。)

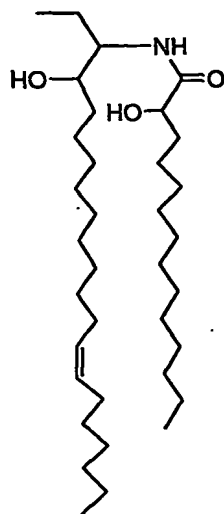
R⁵¹ :



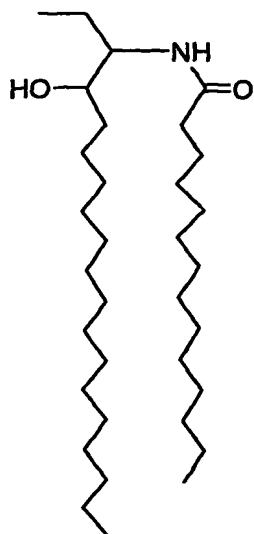
R⁵² :



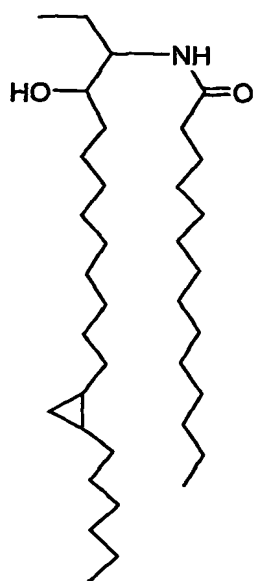
R⁵³ :



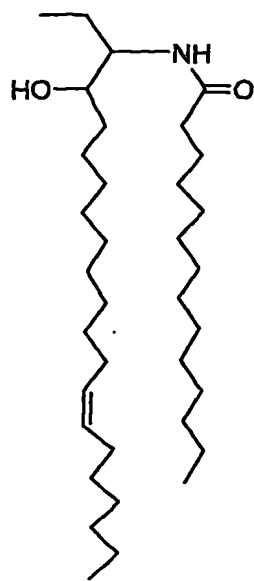
R⁵⁴ :



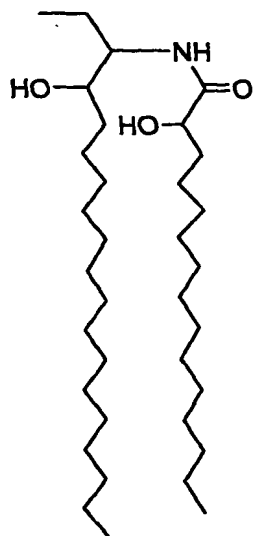
R⁵⁵ :



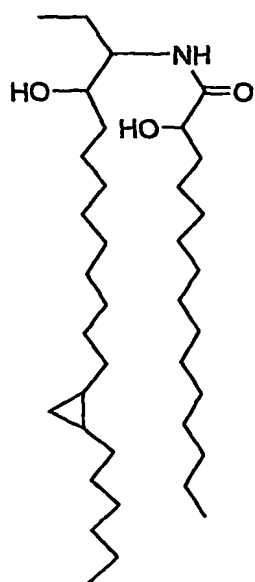
R⁵⁶ :



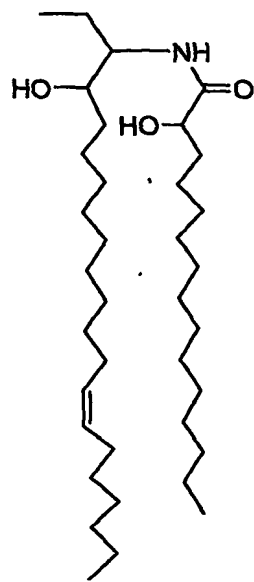
R⁵⁷ :



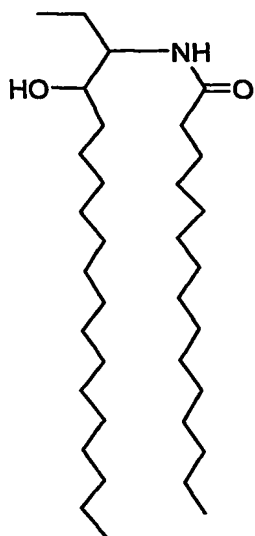
R⁵⁸ :



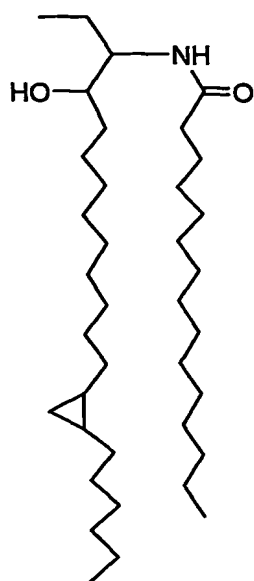
R⁵⁹ :



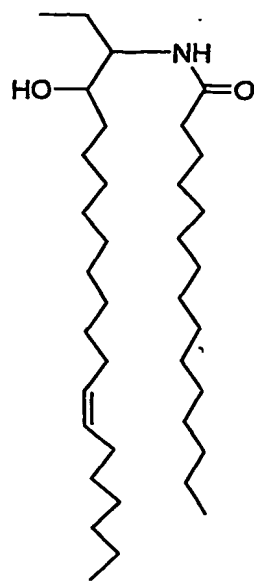
R⁷⁰ :



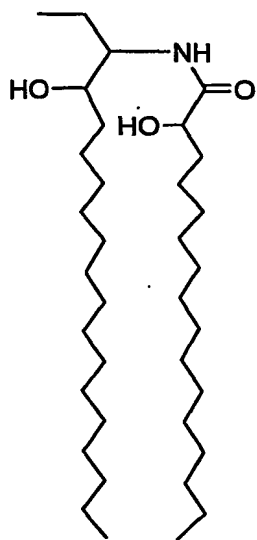
R⁷¹ :



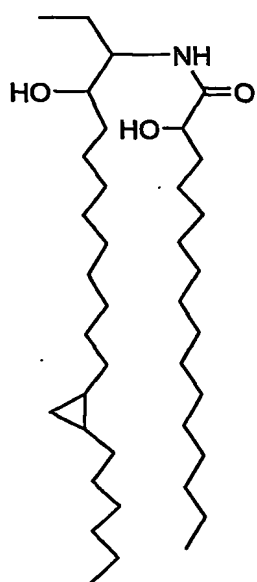
R⁷² :



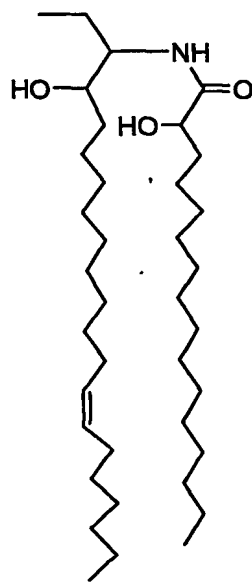
R⁷³ :



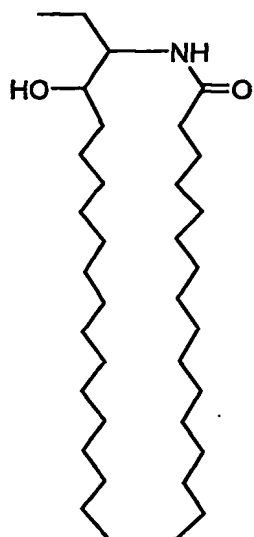
R⁷⁴ :



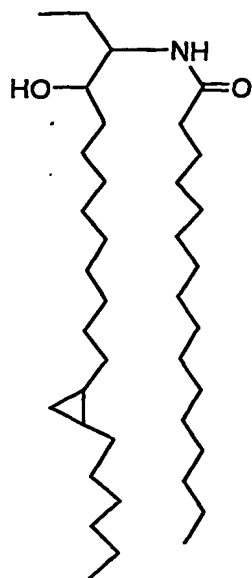
R⁷⁵ :



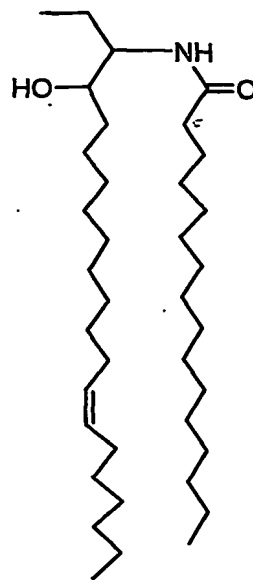
R⁷⁶:



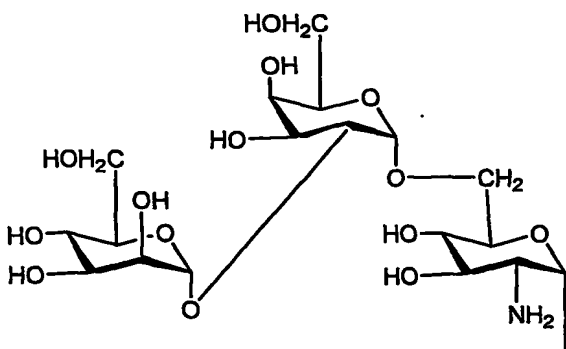
R⁷⁷:



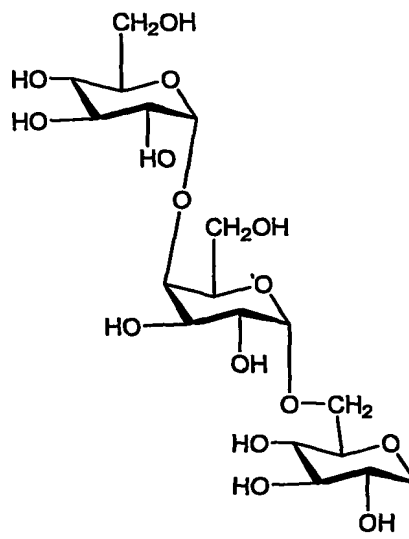
R⁷⁸:



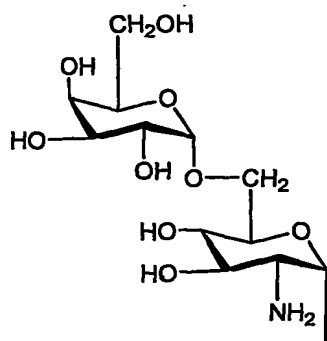
R⁶²:



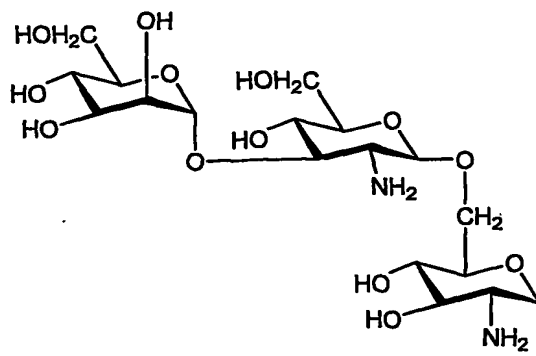
R⁶⁴:



R⁶³:

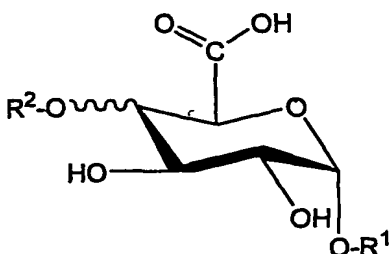


R⁶⁵:



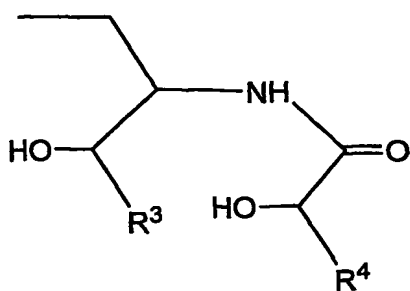
21. 下記式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とする抗ウイルス作用組成物。

式(1)



(式(1)中、 R^1 は、下記式(1-1)

式(1-1)

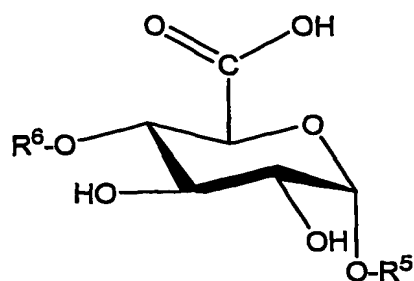


(式(1-1)中、 R^3 は、アルキル基またはアルケニル基であり、 R^4 は、アルキル基である。)を表し、

R^2 は、水素原子または、 α -ガラクトース基、 α -グルコース基、 α -マンノース基、 α -グルコサミン基若しくは β -グルコサミン基またはこれらの組み合わせからなる基である。)

22. 前記式(1)は、下記式(3)で表される、請求項21に記載の抗ウイルス作用組成物。

式(3)

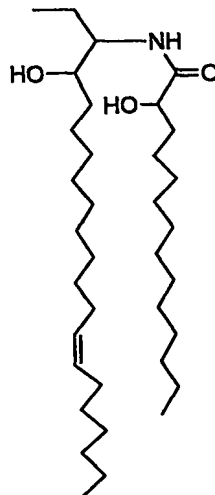
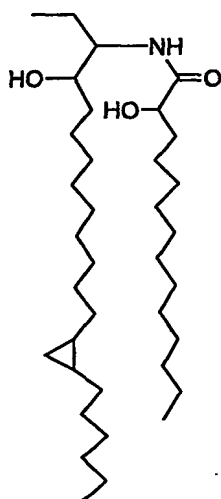
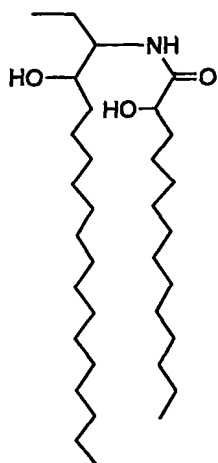


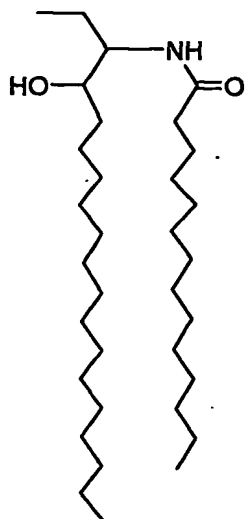
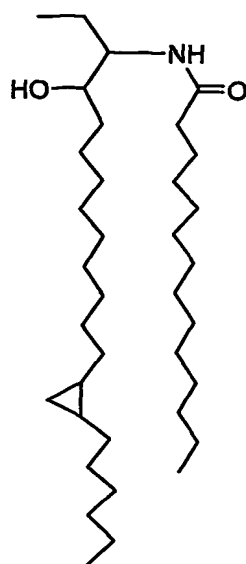
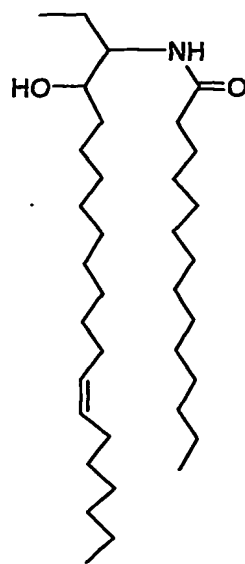
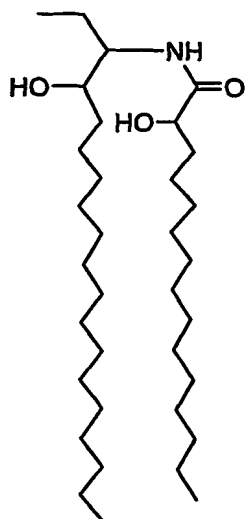
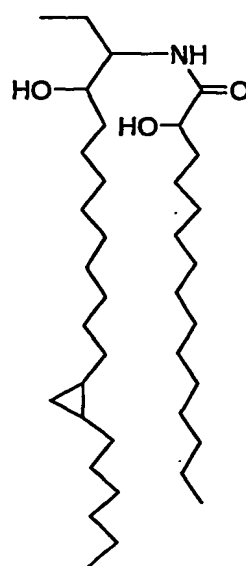
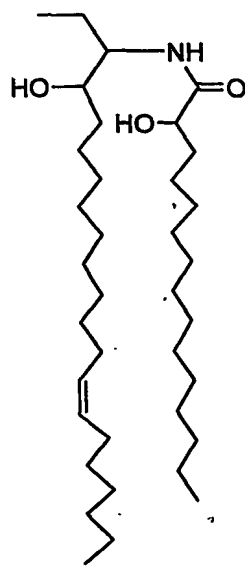
(式(3)中、 R^5 は、下記 R^{51} 、 R^{52} 、 R^{53} 、 R^{54} 、 R^{55} 、 R^{56} 、 R^{57} 、 R^{58} 、 R^{59} 、 R^{70} 、 R^{71} 、 R^{72} 、 R^{73} 、 R^{74} 、 R^{75} 、 R^{76} 、 R^{77} 又は R^{78} を表し、 R^6 は、水素原子、 R^{62} 、 R^{63} 、 R^{64} 又は R^{65} を表す。)

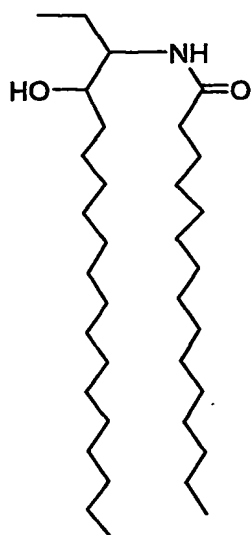
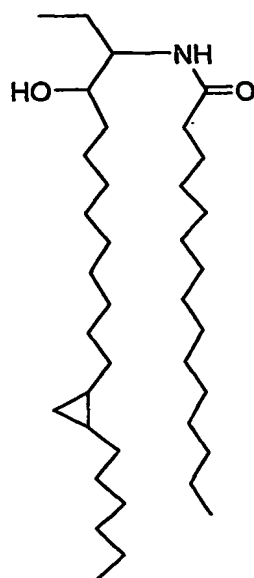
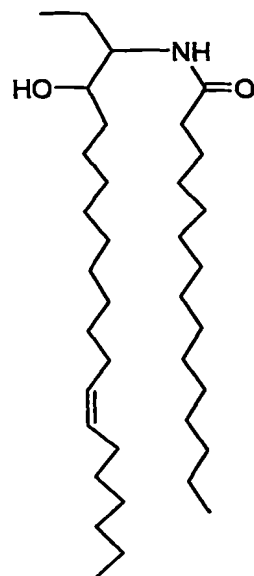
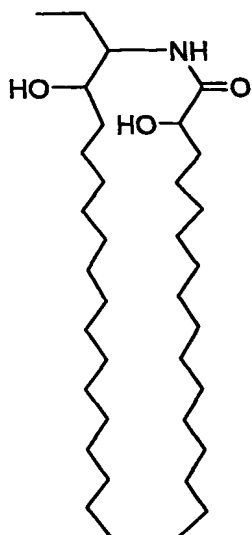
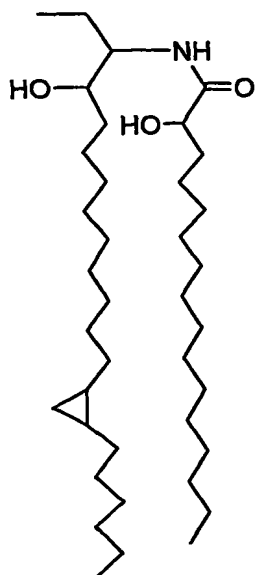
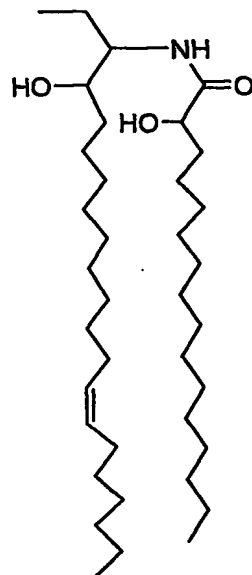
R^{51} :

R^{52} :

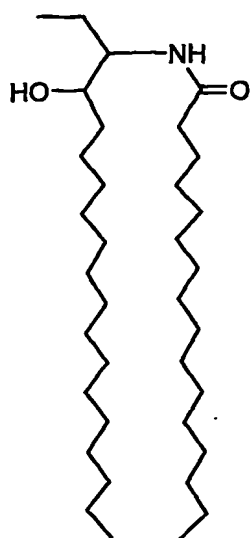
R^{53} :



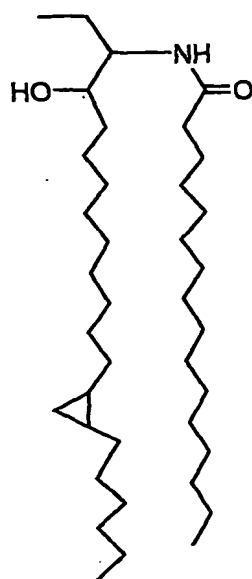
R⁵⁴ :R⁵⁵ :R⁵⁶ :R⁵⁷ :R⁵⁸ :R⁵⁹ :

R⁷⁰ :R⁷¹ :R⁷² :R⁷³ :R⁷⁴ :R⁷⁵ :

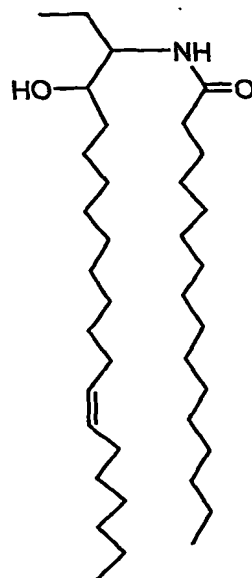
R⁷⁶:



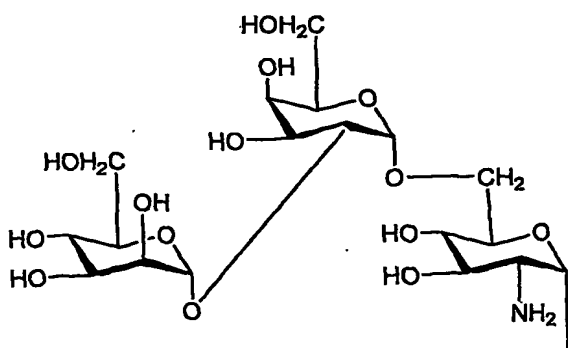
R⁷⁷:



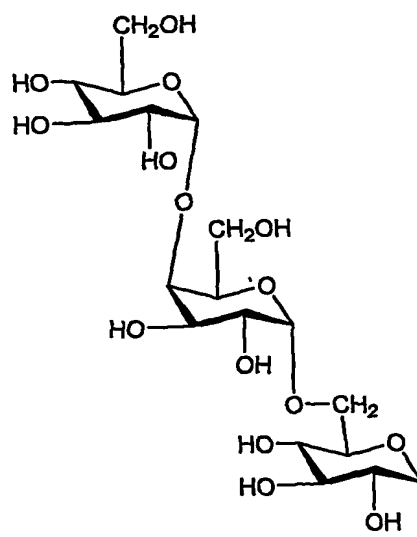
R⁷⁸:



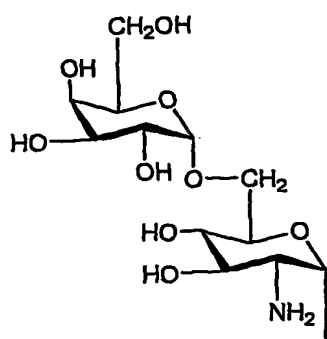
R⁸²:



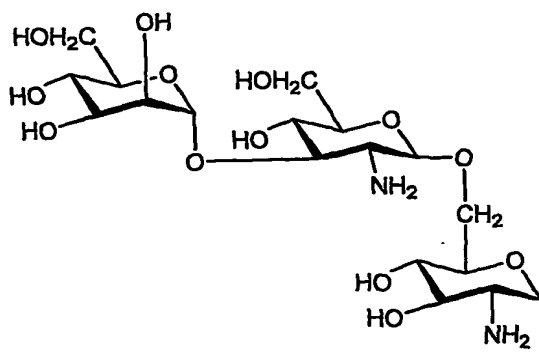
R⁸⁴:



R⁸³:

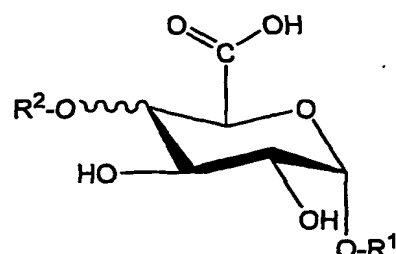


R⁸⁵:



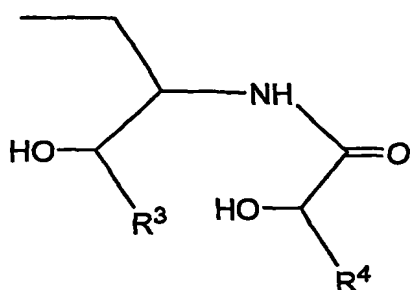
23. 下記式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とするIL-6産生促進用組成物。

式(1)



(式(1)中、R¹は、下記式(1-1)

式(1-1)

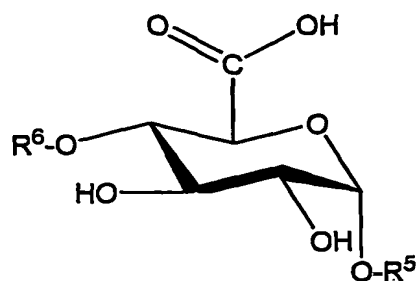


(式(1-1)中、R³は、アルキル基またはアルケニル基であり、R⁴は、アルキル基である。)を表し、

R²は、水素原子または、 α -ガラクトース基、 α -グルコース基、 α -マンノース基、 α -グルコサミン基若しくは β -グルコサミン基またはこれらの組み合わせからなる基である。)

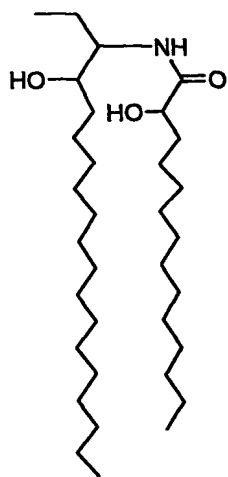
24. 前記式(1)は、下記式(3)で表される、請求項23に記載のIL-6産生促進用組成物。

式(3)

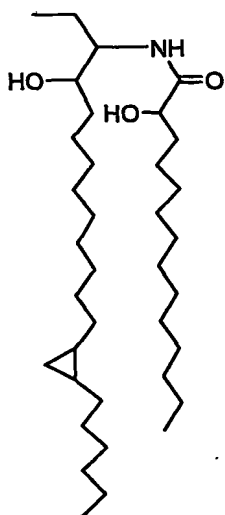


(式(3)中、 R^5 は、下記 R^{51} 、 R^{52} 、 R^{53} 、 R^{54} 、 R^{55} 、 R^{56} 、 R^{57} 、 R^{58} 、 R^{59} 、 R^{70} 、 R^{71} 、 R^{72} 、 R^{73} 、 R^{74} 、 R^{75} 、 R^{76} 、 R^{77} 又は R^{78} を表し、 R^6 は、水素原子、 R^{62} 、 R^{63} 、 R^{64} 又は R^{65} を表す。)

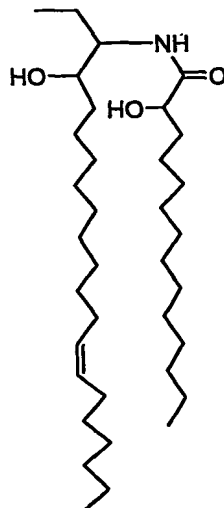
R^{51} :



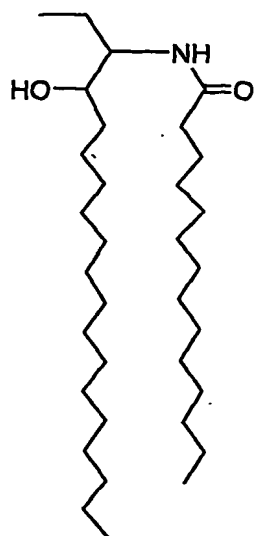
R^{52} :



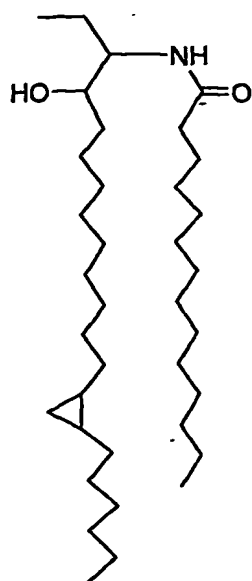
R^{53} :



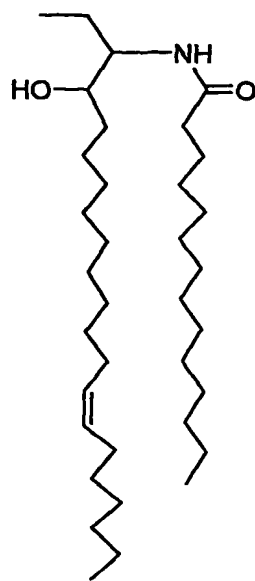
R⁵⁴ :



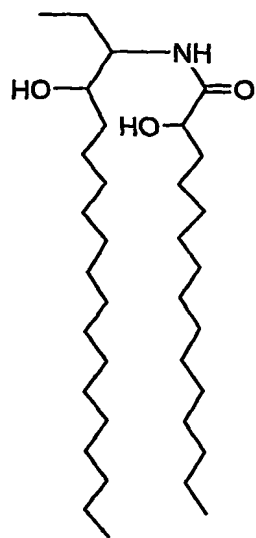
R⁵⁵ :



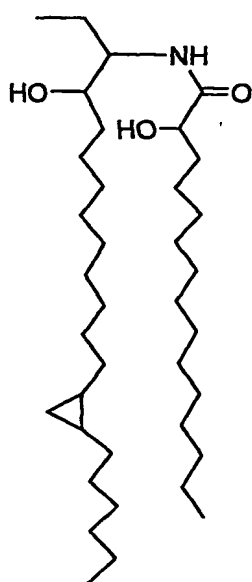
R⁵⁶ :



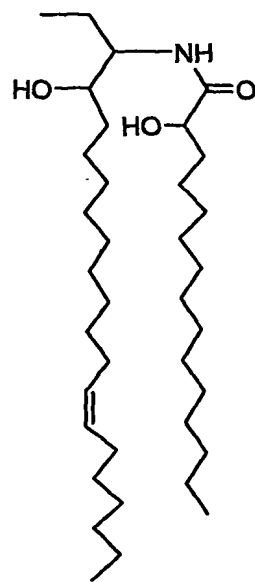
R⁵⁷ :

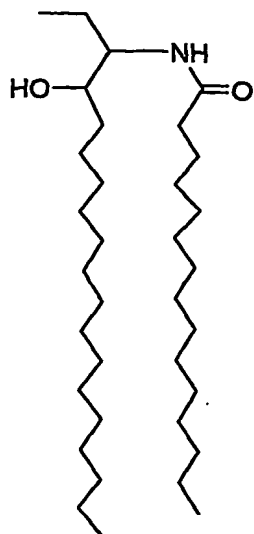
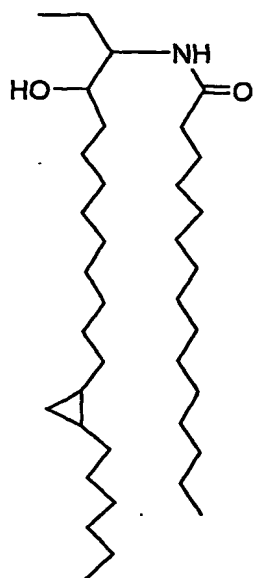
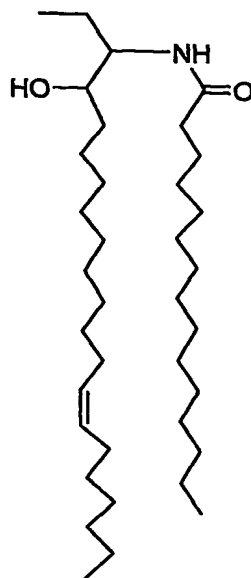
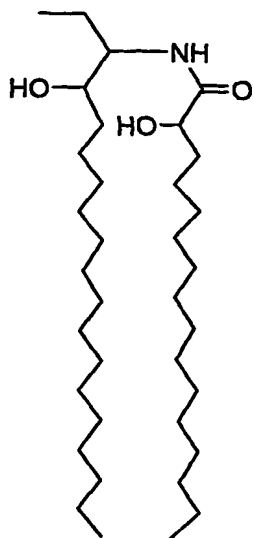
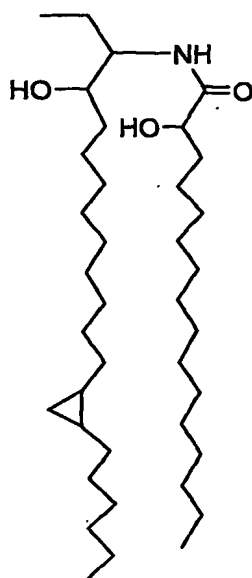
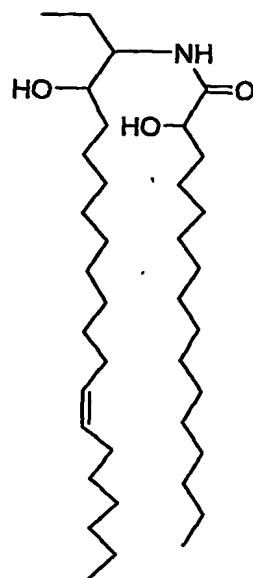


R⁵⁸ :

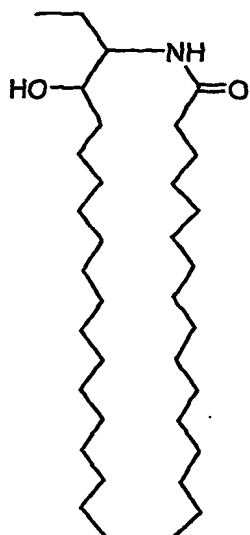


R⁵⁹ :

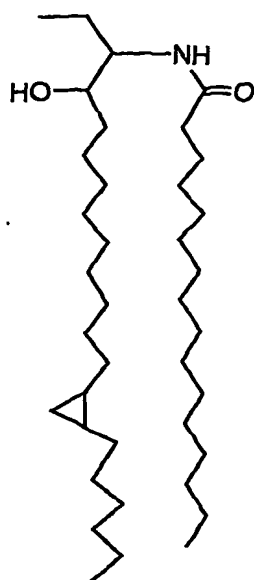


R⁷⁰ :R⁷¹ :R⁷² :R⁷³ :R⁷⁴ :R⁷⁵ :

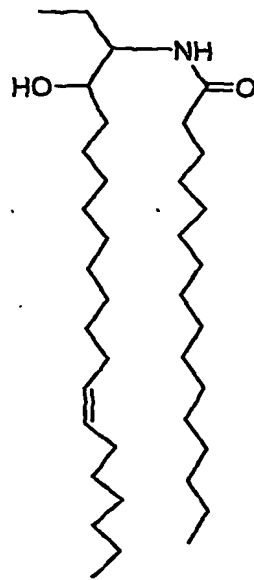
R⁷⁶:



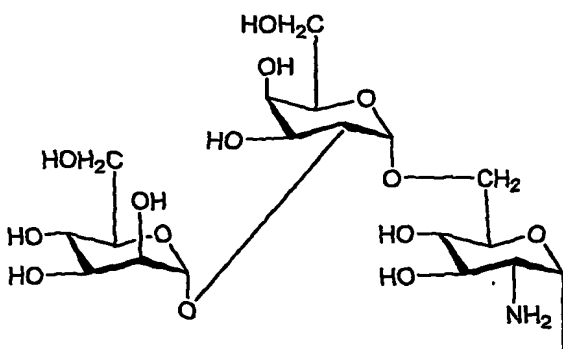
R⁷⁷:



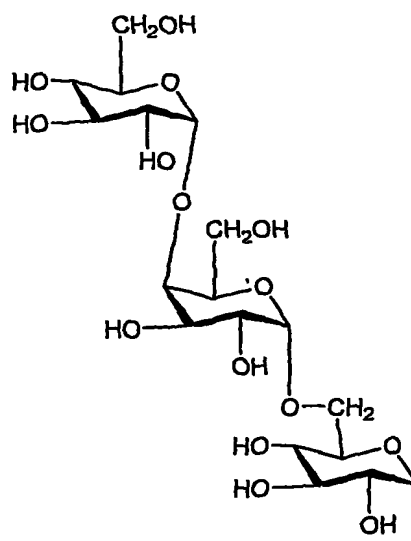
R⁷⁸:



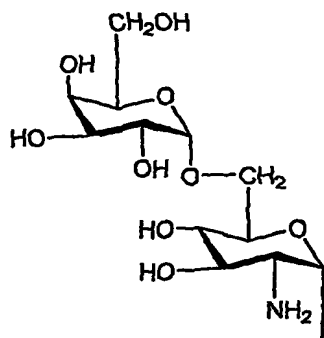
R⁶²:



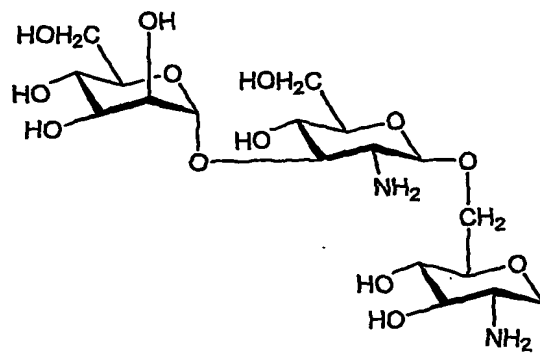
R⁶⁴:



R⁶³:

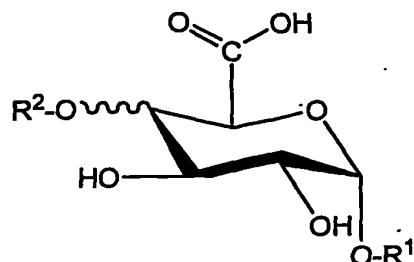


R⁶⁵:



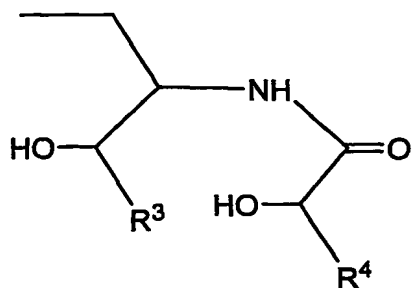
25. 下記式(1)で表される構造を有するスフィンゴ糖脂質を含有することを特徴とするNO産出促進用組成物。

式(1)



(式(1)中、 R^1 は、下記式(1-1)

式(1-1)

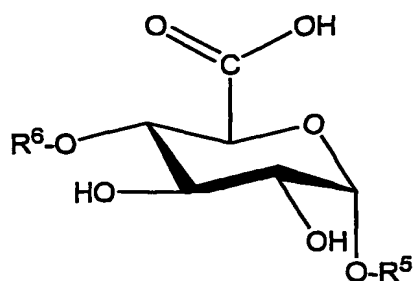


(式(1-1)中、 R^3 は、アルキル基またはアルケニル基であり、 R^4 は、アルキル基である。)を表し、

R^2 は、水素原子または、 α -ガラクトース基、 α -グルコース基、 α -マンノース基、 α -グルコサミン基若しくは β -グルコサミン基またはこれらの組み合わせからなる基である。)

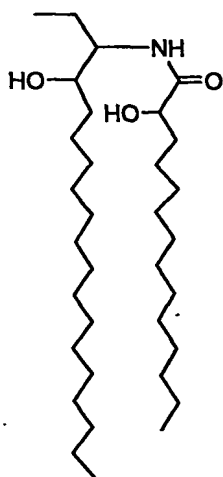
26. 前記式(1)は、下記式(3)で表される、請求項25に記載のNO産出促進用組成物。

式(3)

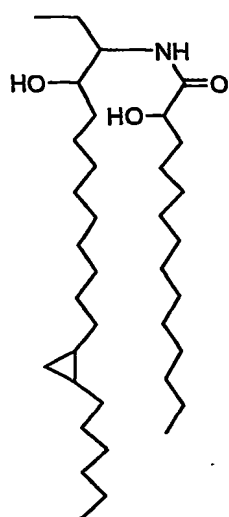


(式(3)中、 R^5 は、下記 R^{51} 、 R^{52} 、 R^{53} 、 R^{54} 、 R^{55} 、 R^{56} 、 R^{57} 、 R^{58} 、 R^{59} 、 R^{70} 、 R^{71} 、 R^{72} 、 R^{73} 、 R^{74} 、 R^{75} 、 R^{76} 、 R^{77} 又は R^{78} を表し、 R^6 は、水素原子、 R^{62} 、 R^{63} 、 R^{64} 又は R^{65} を表す。)

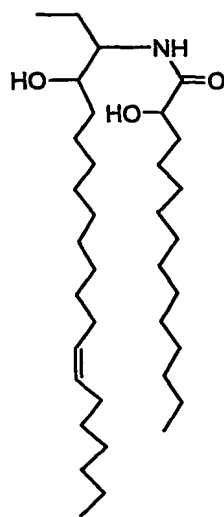
R^{51} :



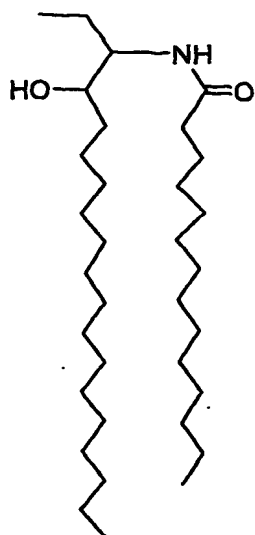
R^{52} :



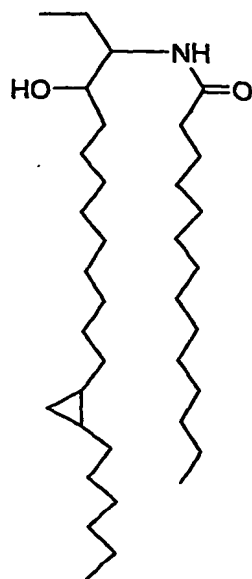
R^{53} :



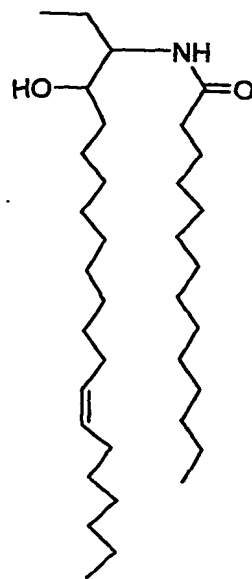
R⁵⁴ :



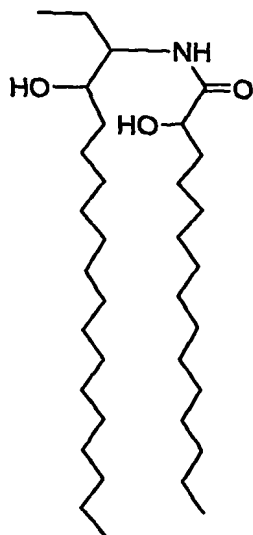
R⁵⁵ :



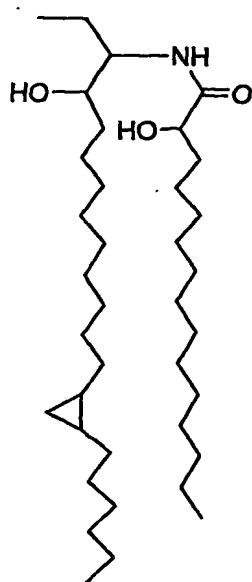
R⁵⁶ :



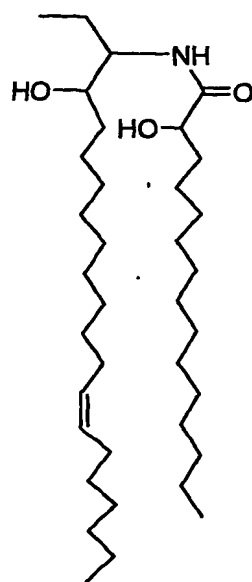
R⁵⁷ :

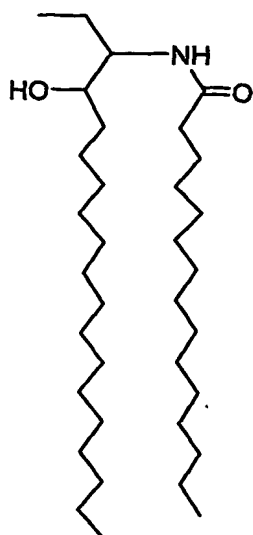
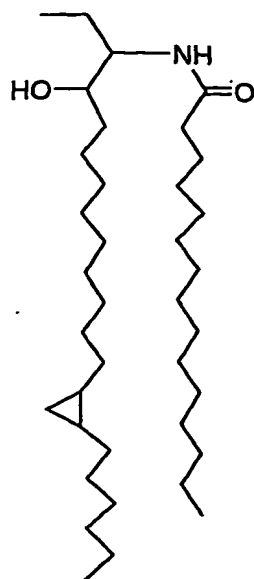
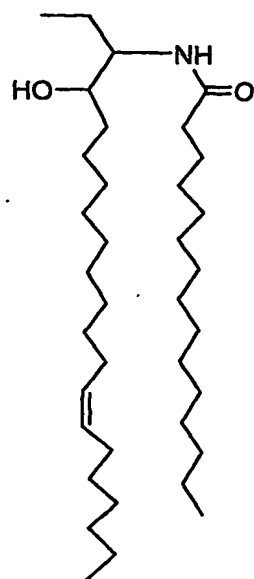
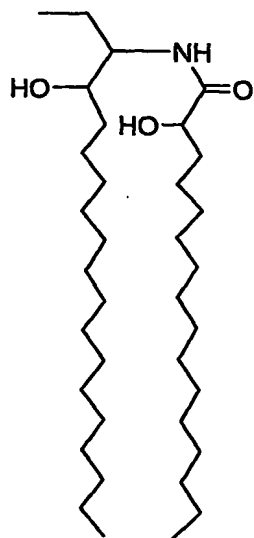
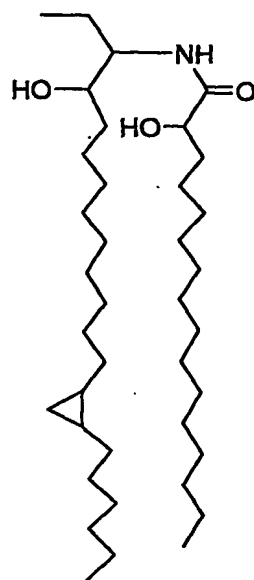
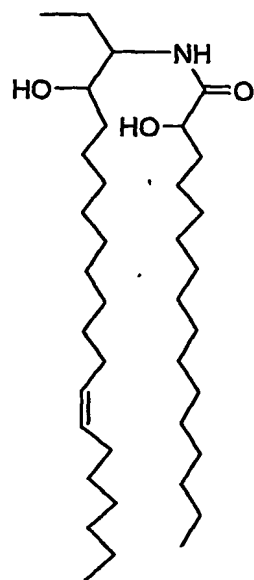


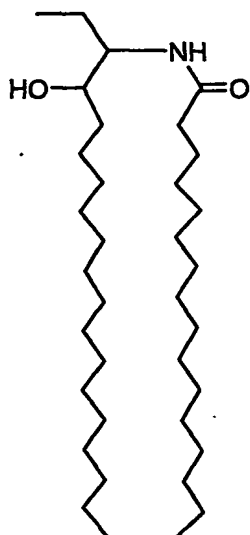
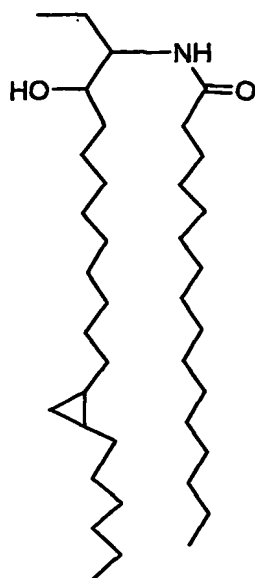
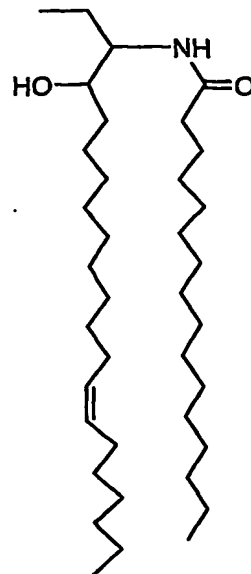
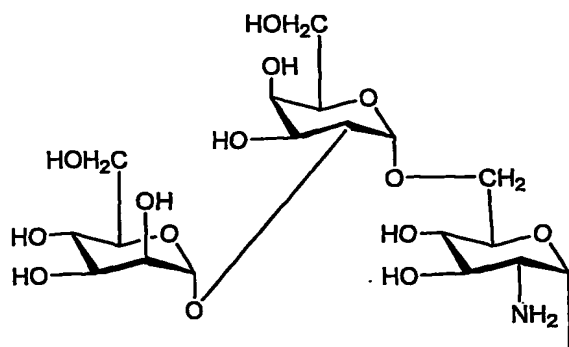
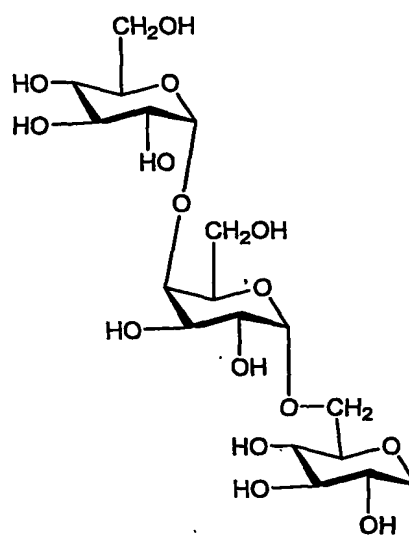
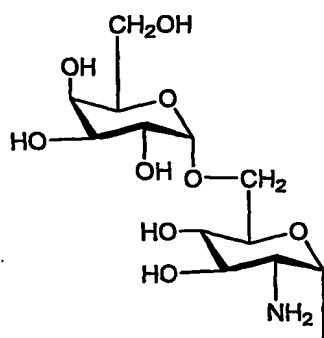
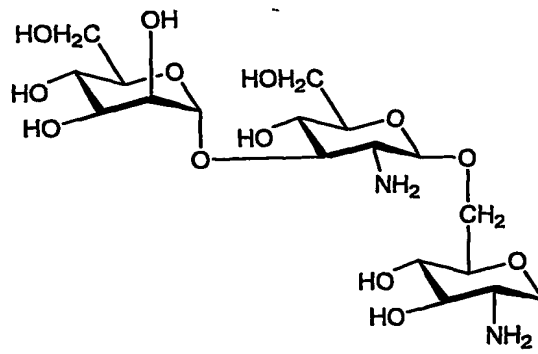
R⁵⁸ :



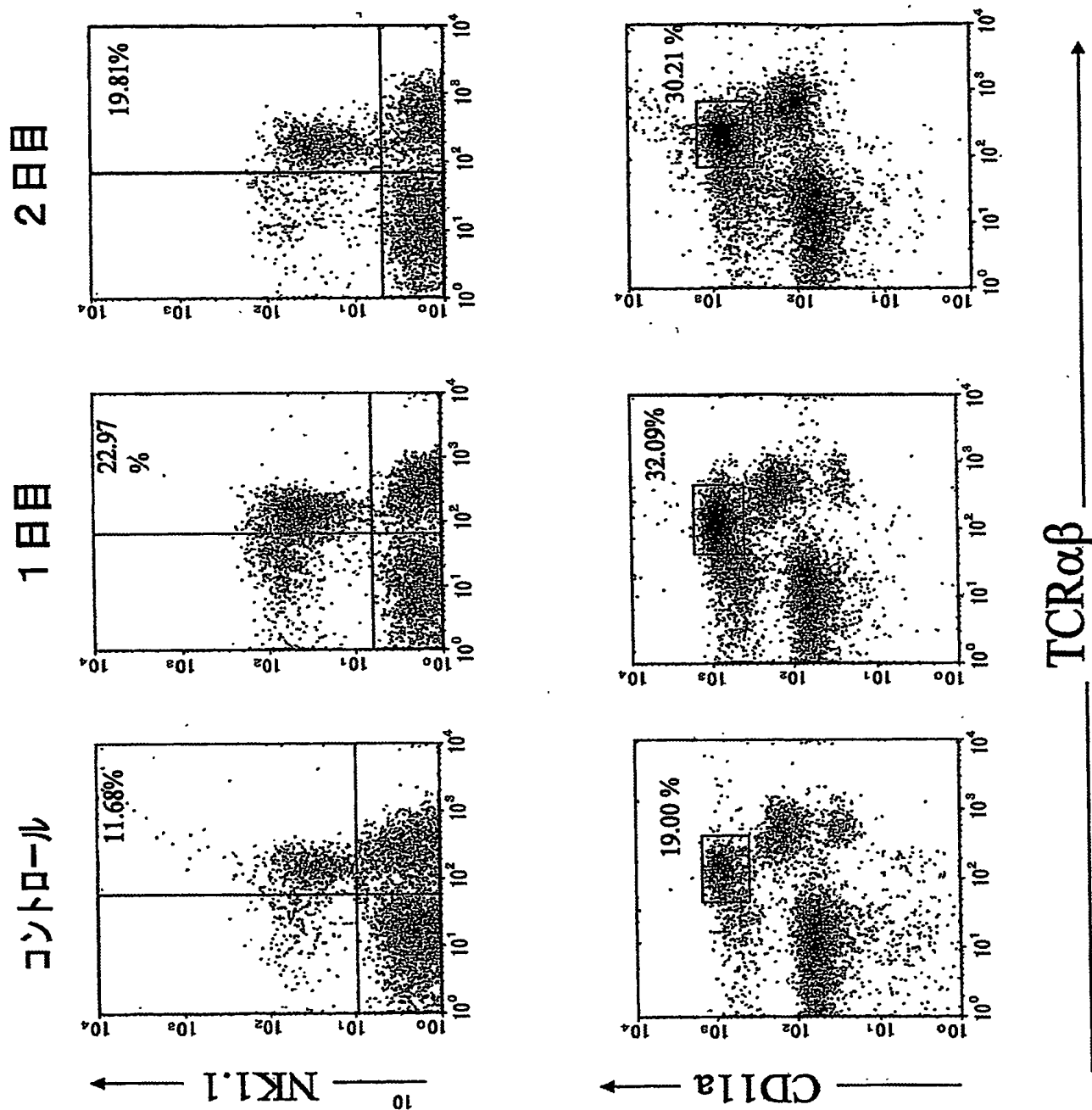
R⁵⁹ :



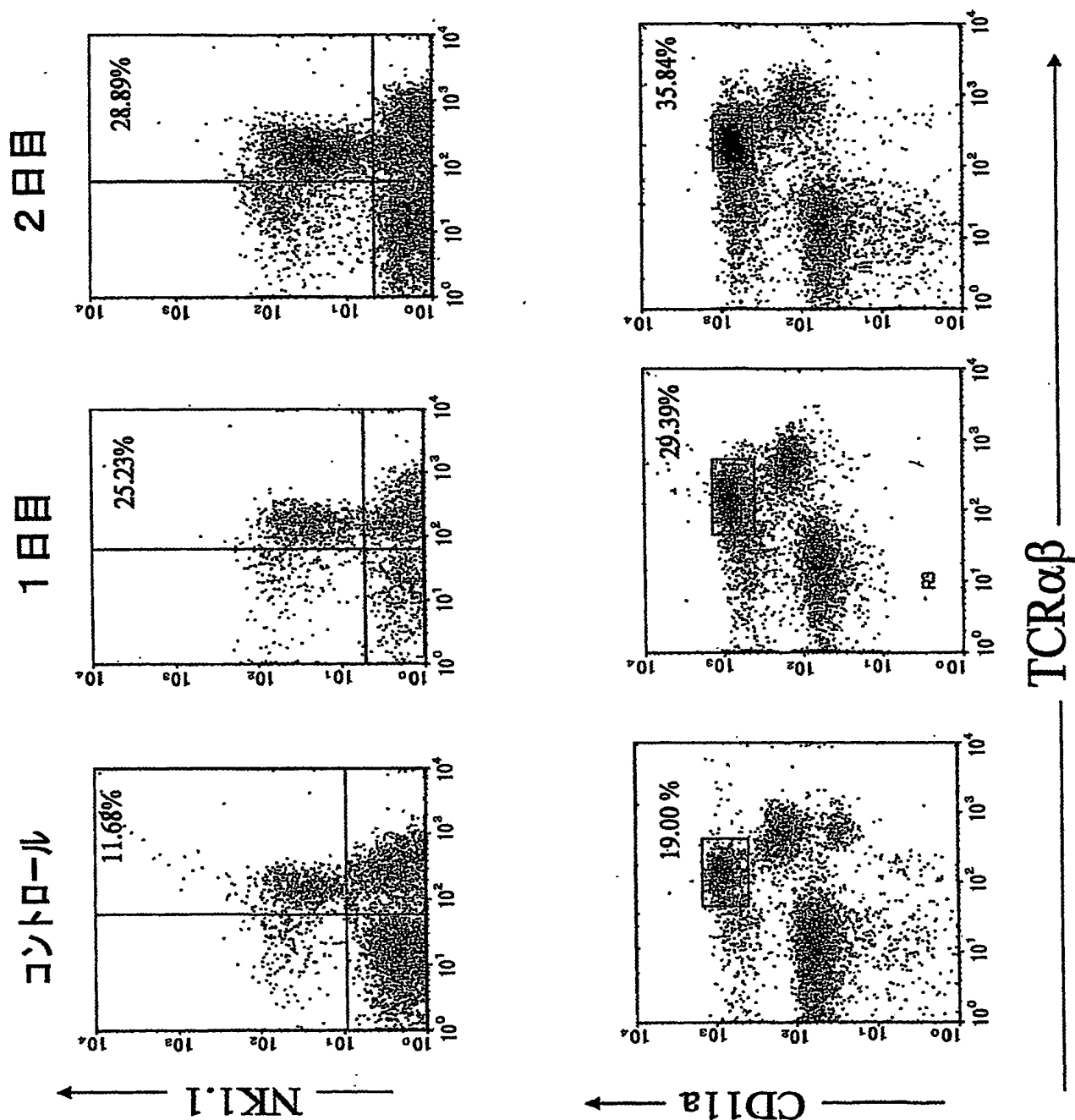
R⁷⁰ :R⁷¹ :R⁷² :R⁷³ :R⁷⁴ :R⁷⁵ :

R⁷⁶:R⁷⁷:R⁷⁸:R⁶²:R⁶⁴:R⁶³:R⁶⁵:

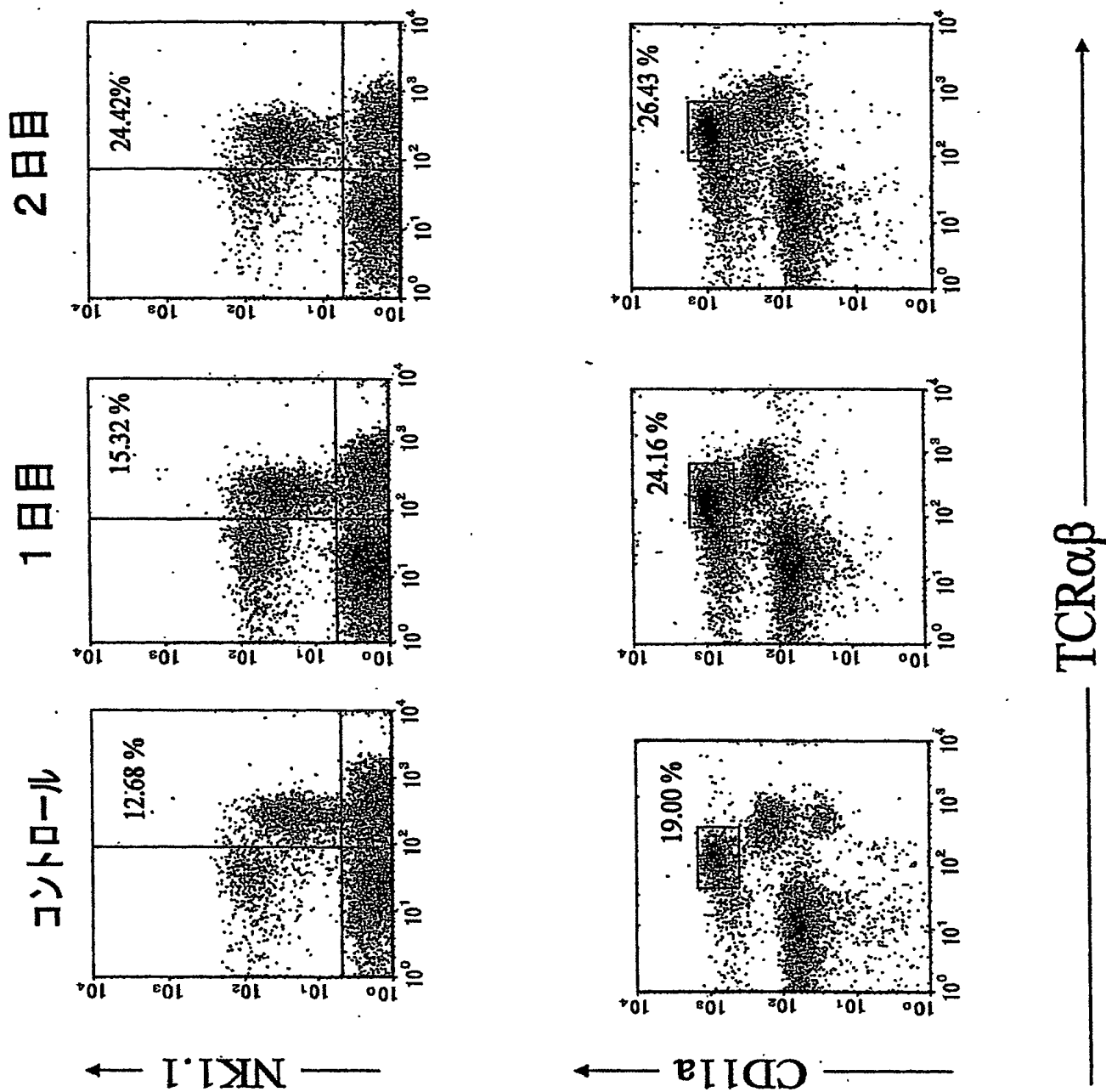
第1図



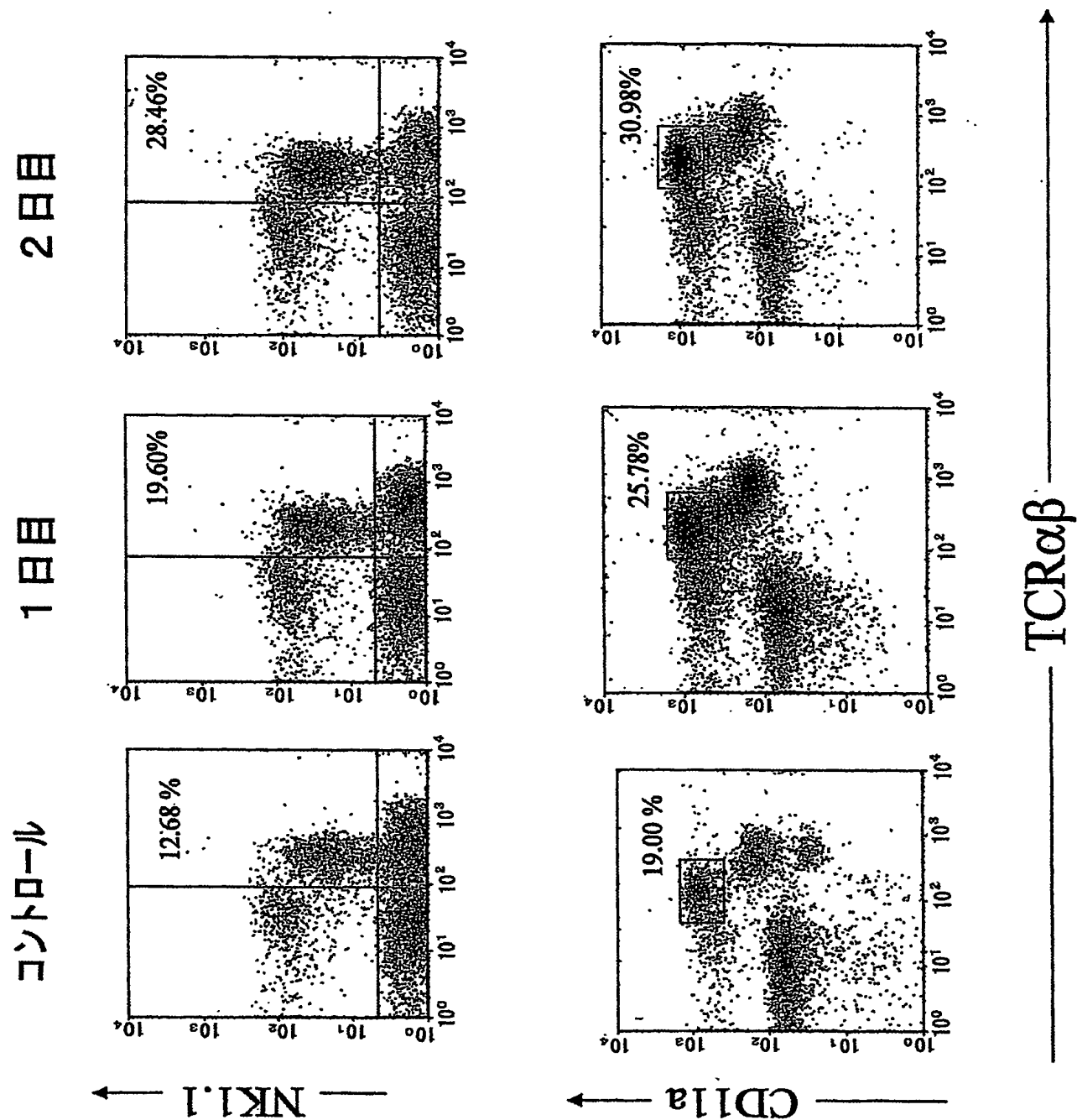
第2図



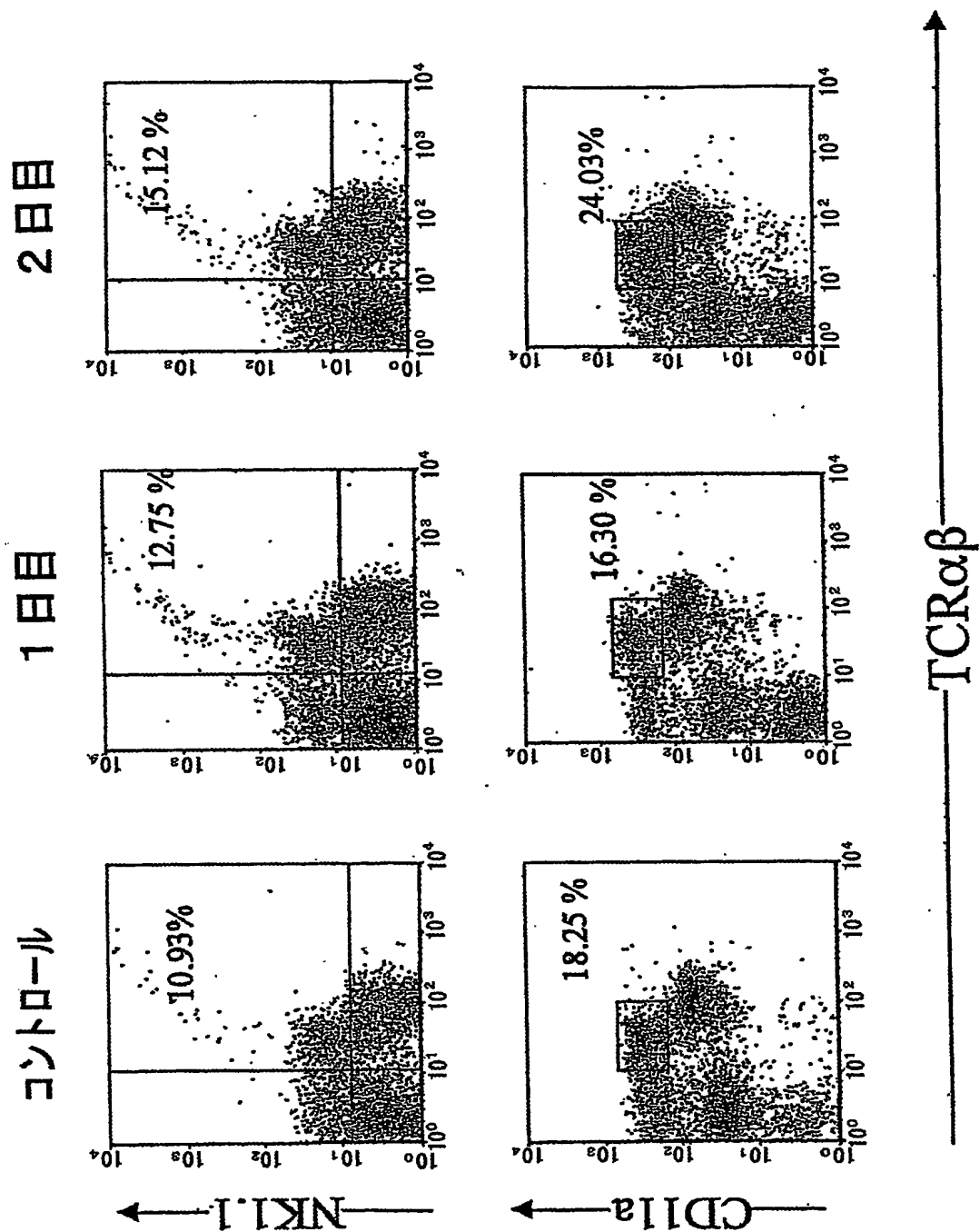
第3図



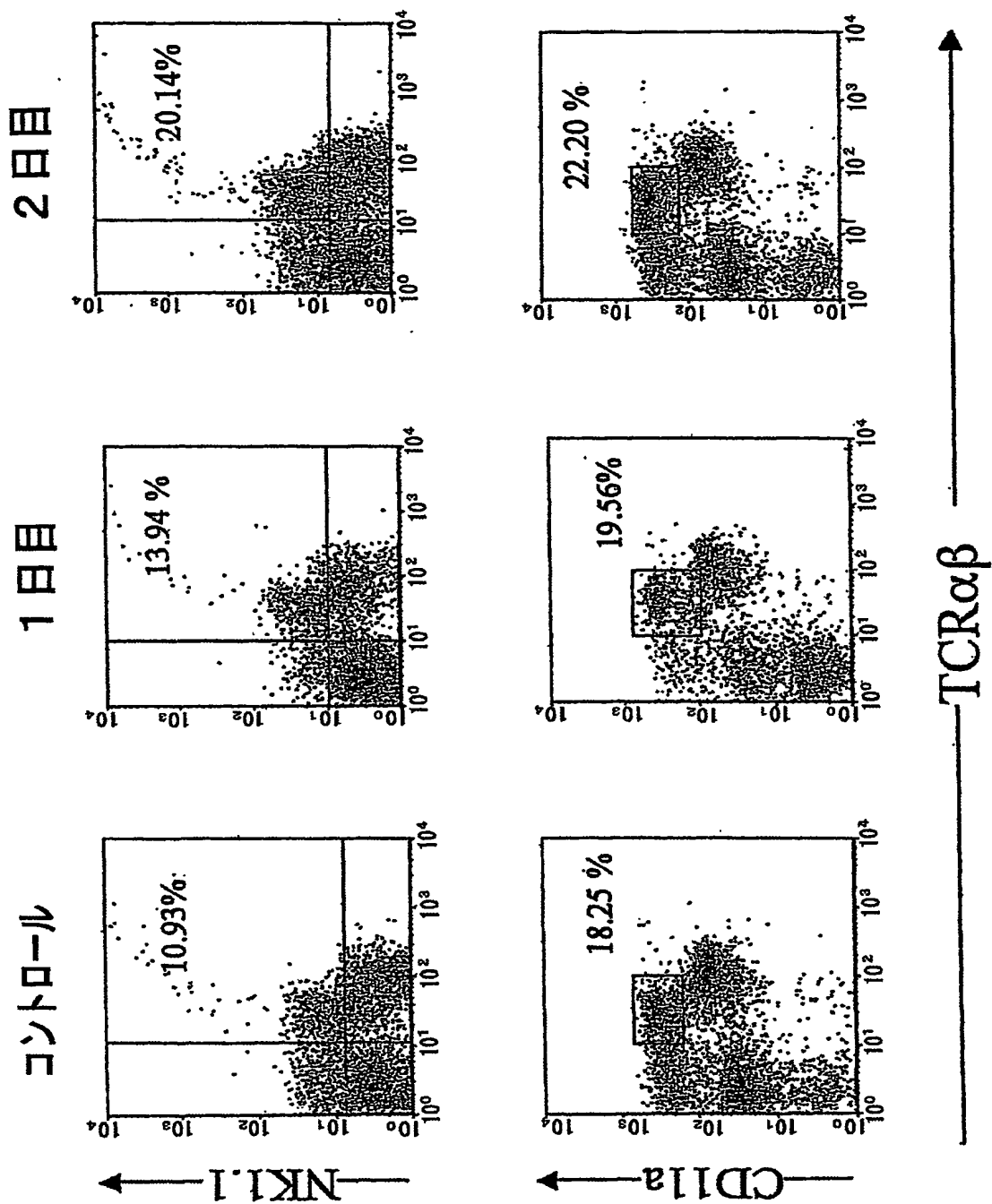
第4図



第5図



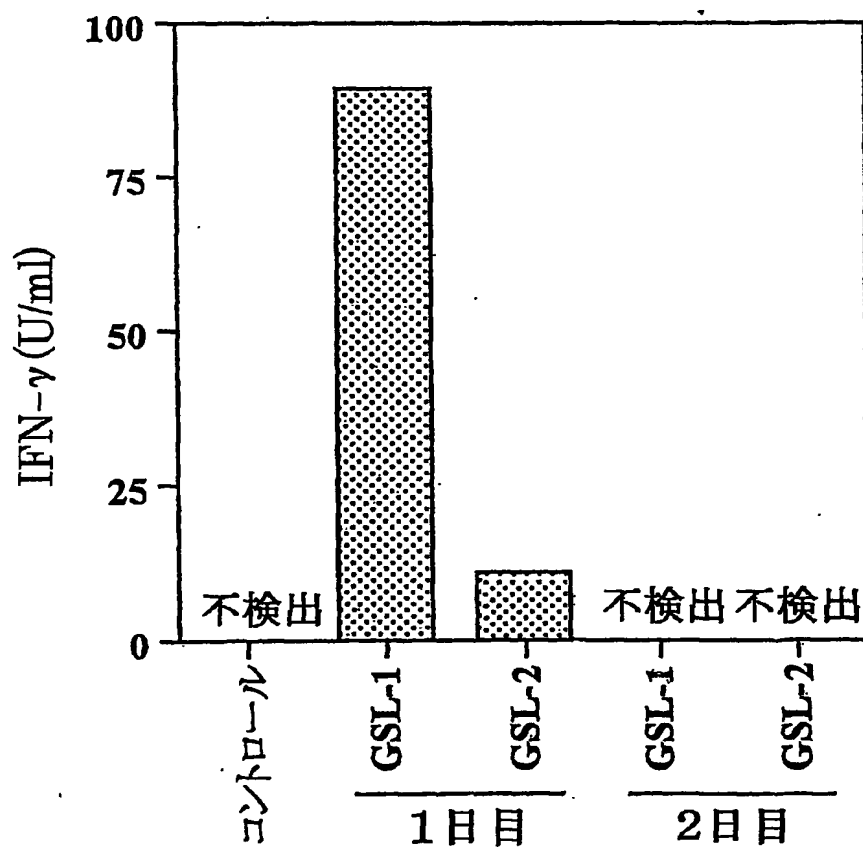
第6図



第7図

	1日目(%)	2日目(%)
コントロール	14.5	13.7
GSL-1	18.4	22.8 *
GSL-2	21.7 *	26.1 *
GSL-6	14.6	23.4 *
GSL-7	11.9	23.2 *

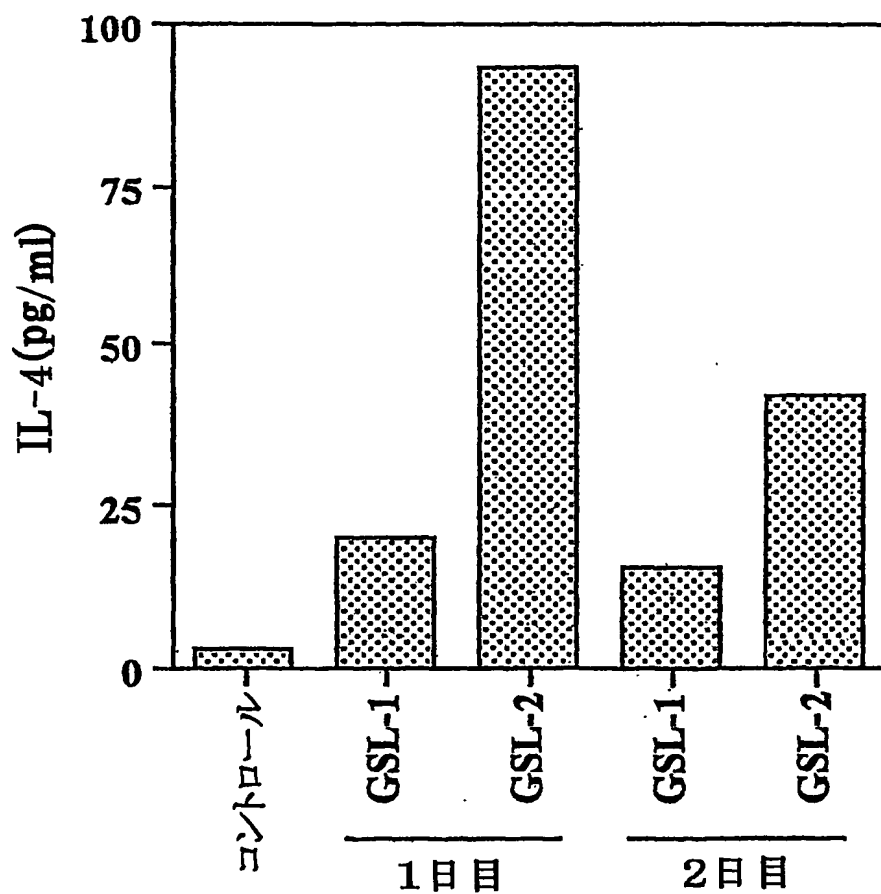
第8図



第9図

	1日目(%)	2日目(%)
コントロール	3.4	3.4
GSL-1	9.8	35.5
GSL-2	24.0	25.9

第10図



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/003234

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K31/7012, A61P35/00, 43/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K31/7012, A61P35/00, 43/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAPLUS (STN), REGISTRY (STN), Medline (STN), BIOSIS (STN), EMBASE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KRZIWON, C. et al., Glycosphingolipids from Sphingomonas paucimobilis Induce Monokine Production in Human Mononuclear Cells, Infection and Immunity, 1995, Vol.63, No.8, pages 2899 to 2905	1-26
X	JP 6-145189 A (The Kitasato Institute), 24 May, 1994 (24.05.94), Full text & WO 92/12986 A1 & EP 639580 A1 & US 5672693 A	1-26
X	JP 2002-10797 A (Kibun Food Chemifa Co., Ltd.), 15 January, 2002 (15.01.02), Full text & EP 1167374 A1 & US 2002/037291 A1	1-26



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
01 April, 2005 (01.04.05)

Date of mailing of the international search report
19 April, 2005 (19.04.05)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/003234

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 11-43437 A (Kibun Food Chemifa Co., Ltd.), 16 February, 1999 (16.02.99), Full text & JP 10-327853 A & JP 10-330273 A & EP 887070 A1	17,18
X	JP 2000-51676 A (Kibun Food Chemifa Co., Ltd.), 22 February, 2000 (22.02.00), Full text & EP 978274 A2 & US 6306915 B1	17,18
A	JP 2003-199587 A (Mitsubishi Chemical Corp.), 15 July, 2003 (15.07.03), Particularly, Par. No. [0051] (Family: none)	1-26
A	JP 2002-97152 A (Ricom Corp.), 02 April, 2002 (02.04.02), Particularly, Par. Nos. [0002], [0003] (Family: none)	1-26
A	JP 2002-509861 A (The United States of America), 02 April, 2002 (02.04.02), Particularly, Claim 18 & EP 1056843 A1	1-26
A	JP 2002-265366 A (Takeda Food Products, Ltd.), 18 September, 2002 (18.09.02), Particularly, Par. No. [0004] (Family: none)	1-26
A	WO 03/030938 A1 (Orient Cancer Therapy Co., Ltd.), 17 April, 2003 (17.04.03), Particularly, page 19, lines 13 to 22 (Family: none)	1-26
A	JP 2001-31585 A (Nagase & Co., Ltd.), 06 February, 2001 (06.02.01), Particularly, Par. No. [0031] (Family: none)	1-26
A	JP 2003-146887 A (Yugen Kaisha Goto Corp.), 21 May, 2003 (21.05.03), Particularly, Par. Nos. [0001], [0011] (Family: none)	1-26
A	Nanzando, Igaku Daijiten Gokaban, 18 Han, pages 2003 to 2004, Macrophage, Macrophage Kasseika Inshi, 1998 Nen	1-26

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/003234

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 01/82935 A1 (Orient Cancer Therapy Co., Ltd.), 08 November, 2001 (08.11.01) Particularly, page 1 & JP 2002-3403 A & US 2002/010149 A1 & EP 1277472 A1	1-26
A	WO 98/44928 A1 (Kirin Brewery Co., Ltd.), 15 October, 1998 (15.10.98), Full text & EP 988860 A1 & US 2003/139351 A1	1-26
A	JP 9-315980 A (Kirin Brewery Co., Ltd.), 09 December, 1997 (09.12.97), Full text (Family: none)	1-26

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/003234

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

A matter common to the subject matters of claims 1 to 26 resides in a medicinal composition containing a sphingoglycolipid represented by the formula (1). However, medicinal compositions containing the sphingoglycolipid were known before the filing of this application as apparent from the fact that these are described in JP 6-145189 A, JP 11-43437 A, JP 2000-51676 A, etc. There is hence no relationship among the subject matters of the claims which has a common special technical feature exceeding the prior art. The claims are not considered to be so linked as to form a single general inventive concept.

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K31/7012, A61P35/00, 43/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K31/7012, A61P35/00, 43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN), Medline (STN), BIOSIS (STN), EMBASE (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	KRZIWON, C. et al., Glycosphingolipids from Sphingomonas paucimobilis Induce Monokine Production in Human Mononuclear Cells, Infection and Immunity, 1995, Vol. 63, No. 8, pages 2899-2905	1-26
X	J P 6-145189 A (社団法人北里研究所) 1994. 05. 24、 全文 & WO 92/12986 A1 & EP 639580 A1 & US 5672693 A	1-26

☒ C欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

01. 04. 2005

国際調査報告の発送日

19. 4. 2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

伊藤 幸司

4C

9450

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 2002-10797 A (株式会社紀文フードケミファ) 2002.01.15、全文 & EP 1167374 A1 & US 2002/037291 A1	1-26
X	JP 11-43437 A (株式会社紀文フードケミファ) 1999.02.16、全文 & JP 10-327853 A & JP 10-330273 A & EP 887070 A1	17, 18
X	JP 2000-51676 A (株式会社紀文フードケミファ) 2000.02.22、全文 & EP 978274 A2 & US 6306915 B1	17, 18
A	JP 2003-199587 A (三菱化学株式会社) 2003.07.15、特に第[0051]段落 (ファミリーなし)	1-26
A	JP 2002-97152 A (株式会社リコム) 2002.04.02、 特に第[0002]、[0003]段落 (ファミリーなし)	1-26
A	JP 2002-509861 A (アメリカ合衆国) 2002.04.02、 特に請求項18 & EP 1056843 A1	1-26
A	JP 2002-265366 A (武田食品工業株式会社) 2002.09.18、特に第[0004]段落 (ファミリーなし)	1-26
A	WO 03/030938 A1 (株式会社オリエントキャンサーセ ラピー) 2003.04.17、特に第19頁第13-22行 (ファミリーなし)	1-26
A	JP 2001-31585 A (長瀬産業株式会社) 2001.02.06、 特に第[0031]段落 (ファミリーなし)	1-26

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 2003-146887 A (有限会社ゴトコーポレーション) 2003.05.21、特に第[0001]段落、第[0011]段落 (ファミリーなし)	1-26
A	南山堂 医学大辞典 豪華版 18版、第2003-2004頁、マクロファージ、マクロファージ活性化因子、1998年	1-26
A	WO 01/82935 A1 (株式会社オリエントキャンサーセラピー) 2001.11.08、特に第1頁 & JP 2002-3403 A & US 2002/010149 A1 & EP 1277472 A1	1-26
A	WO 98/44928 A1 (麒麟麦酒株式会社) 1998.10.15、全文 & EP 988860 A1 & US 2003/139351 A1	1-26
A	JP 9-315980 A (麒麟麦酒株式会社) 1997.12.09、全文 (ファミリーなし)	1-26

第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項(PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところこの国際調査機関は認めた。

請求の範囲1-26に記載される発明は、式(1)で表されるスフィンゴ糖脂質を含有する医薬組成物である点で共通するものの、該スフィンゴ糖脂質を含有する医薬組成物は、JP 6-1451 89 A、JP 11-43437 A、JP 2000-51676 A等に記載されているように、この出願前に公知であるから、同請求の範囲に記載される発明は、先行技術を越える特別な技術的特徴を共有する関係にはなく、単一の一般的発明概念を形成するように連関しているものとは認められない。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☒ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。